



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

Efecto de una Solución Electrolizada de Superoxidación (SES) con
pH neutro en las características fisicoquímicas de carne de pollo
contaminada con *Escherichia coli* O157:H7 durante su
almacenamiento en refrigeración

TESIS

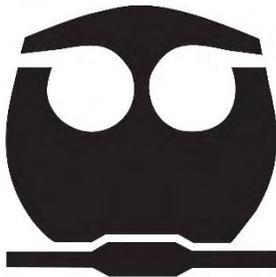
Que para obtener el título de
QUÍMICA DE ALIMENTOS

PRESENTA:

Rosario Pérez Patricia Janet

DIRECTOR DE TESIS

Dr. José Alberto Cano Buendía



Ciudad Universitaria, Cd. Mx.,

2017



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Aurora Irma Ortegón Ávila
VOCAL: Miguel Ángel Hidalgo Torres
SECRETARIO: José Alberto Cano Buendía
1^{er}. SUPLENTE: Hugo Antonio Hernández Pérez
2^o SUPLENTE: Juan Carlos Ramírez Orejel

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Laboratorio de Vacunología y Constatación y Laboratorio de Toxicología,
dependiente de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM

ASESOR DEL TEMA:

Dr. José Alberto Cano Buendía

SUPERVISOR TÉCNICO:

M. en C. Juan Carlos Ramírez Orejel

SUSTENTANTE:

Patricia Janet Rosario Pérez

Índice general

Resumen	1
Introducción	2
Objetivo general	3
Objetivos particulares	3
Hipótesis	4
1.0 Antecedentes	5
1.1 Sector avícola	5
1.2 Producción y consumo de pollo	5
1.3 Contaminación de la carne de pollo	8
1.4 <i>Escherichia coli</i> O157:H7	9
1.5 Desinfección de la carne de pollo	10
1.6 Solución Electrolizada de Superoxidación (SES).....	10
1.7 Características fisicoquímicas de la carne de pollo y su influencias en la conservación	11
1.7.1 Color de la carne de pollo	13
1.7.2 pH y acidez (porcentaje de ácido láctico expresado en %)	15
1.7.3 Formación de bases nitrogenadas volátiles totales (BNVT)	16
1.7.4 Oxidación lipídica	17
2.0 Metodología	19
3.0 Resultados y Discusión	21
3.1 Reporte de confirmación de <i>Escherichia coli</i> O157:H7	21
3.2 Tinción de Gram	21
3.3 Análisis químico de las soluciones desinfectantes	22
3.4 Ensayo <i>in vitro</i>	23

3.5 Microscopia electrónica de transmisión (MET)	23
3.6 Conteo bacteriano de la carne de pollo (evaluación de la contaminación <i>in vivo</i>)	26
3.7 Evaluación de las características físicas de la carne de pollo	30
3.7.1 Evaluación del color de la carne de pollo	30
3.8 Evaluación de las características químicas de la carne de pollo	43
3.8.1 Determinación del pH de la carne de pollo	43
3.8.2 Determinación del porcentaje de ácido láctico de la carne de pollo	47
3.8.3 Determinación del contenido de bases nitrogenadas volátiles totales (BNVT) de la carne de pollo	50
3.8.4 Determinación de sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico de la carne de pollo	54
Conclusiones	58
Proyecciones experimentales	60
Referencias	61
Anexo A	69
Anexo B	79
Anexo C	81

Índice de figuras

Figura 1. Principales países productores de carne de pollo	6
Figura 2. Producción pecuaria de los insumos cárnicos	6
Figura 3. Principales estados productores de pollo	7
Figura 4. Principales países consumidores de carne de pollo	8
Figura 5. Esquema del proceso de electrólisis para la formación de la SES	11
Figura 6. Esquema del espacio de color CIE <i>Lab</i>	14
Figura 7. Reacción del ácido 2-tiobarbitúrico con malondialdehído y formación del complejo colorido	18
Figura 8. Metodología	19
Figura 9. Tinción de Gram para <i>Escherichia coli</i> O157:H7 con acción de los desinfectantes.....	21
Figura 10. Microscopía Electrónica de Transmisión de <i>Escherichia coli</i> O157:H7 vista a 6000 y 7500 aumentos con acción de solución salina fisiológica (SSF) y SES	24
Figura 11. Efecto de los desinfectantes (SES, NaClO y SSF) sobre la carga bacteriana de la carne de pollo	27
Figura 12 Efecto de los desinfectantes (SES, NaClO, SSF) sobre el parámetro de luminosidad (<i>L</i>) de la carne de pollo	31
Figura 13. Evaluación del efecto de los desinfectantes (SES, NaClO, SSF) sobre el parámetro <i>b</i> (cambio de azul-amarillo) para la carne de pollo	33
Figura 14. Estructura de los principales pigmentos responsables de la coloración amarilla de la carne de pollo	34
Figura 15. Reacción de saponificación entre una base y un ácido graso	35
Figura 16. Evaluación del efecto de los desinfectantes (SES, NaClO, SSF) sobre el parámetro <i>a</i> (cambio de verde a rojo) para la carne de pollo	37
Figura 17. Esquema de oxidación y reducción de la mioglobina	39

Figura 18. Evaluación del efecto de los desinfectantes sobre el cambio total de color (ΔE) en la carne de pollo.....	41
Figura 19. Evaluación del efecto de los desinfectantes sobre el pH de la carne de pollo.....	44
Figura 20. Evaluación del efecto de los desinfectantes sobre el porcentaje de ácido láctico en la carne de pollo.....	48
Figura 21. Evaluación del efecto de los desinfectantes sobre la formación de bases nitrogenadas volátiles totales (BNVT) en la carne de pollo.....	51
Figura 22. Evaluación del efecto de los desinfectantes sobre la oxidación lipídica en la carne de pollo.....	55

ANEXO A

Figura A1. Equipo utilizado para el análisis químico. Electrodo portátil impermeable y fotómetro portátil.....	70
Figura A2. Determinación de cloro libre.....	71
Figura A3. Obtención de la carne de pollo.....	74
Figura A4. Proceso de desinfección en la carne de pollo.....	75

ANEXO B

Figura B1. Reporte de confirmación de la cepa de <i>Escherichia coli</i>	79
Figura B2. Esquema de formación de aminas biogénicas.....	80

Índice de cuadros

Cuadro 1. Factores asociados a la conservación de la carne de pollo	12
Cuadro 2. Agrupamiento y planeación experimental	20
Cuadro 3. Análisis químico de las soluciones desinfectantes	22
Cuadro 4. Resultados del ensayo <i>in vitro</i> para el porcentaje de reducción bacteriana de <i>E. coli</i> O157:H7	23
Cuadro 5. Composición química de la carne de pollo	28
Cuadro 6. Aminas biogénicas y aminoácidos precursores	53

ANEXO C

Cuadro 1C. Conteo bacteriano de las muestras de carne del grupo 1a del experimento UCD.....	81
Cuadro 2C. Conteo bacteriano de las muestras de carne del grupo 2a del experimento UCD	81
Cuadro 3C. Conteo bacteriano de las muestras de carne del grupo 3a del experimento UCD	81
Cuadro 4C. Conteo bacteriano de las muestras de carne de pollo del grupo 1b del experimento CD	82
Cuadro 5C. Conteo bacteriano de las muestras de carne de pollo del grupo 2b del experimento CD	82
Cuadro 6C. Conteo bacteriano de las muestras de carne de pollo del grupo 3b del experimento CD	82
Cuadro 7C. Conteo bacteriano de las muestras de carne de pollo del grupo 1c del experimento D	83
Cuadro 8C. Conteo bacteriano de las muestras de carne de pollo del grupo 2c del experimento D	83
Cuadro 9C. pH y porcentaje de ácido láctico en las muestras de carne del grupo 1a del experimento UCD.....	84

Cuadro 10C. pH y porcentaje de ácido láctico en las muestras de carne del grupo 2a del experimento UCD.....	85
Cuadro 11C. pH y porcentaje de ácido láctico en las muestras de carne del grupo 3a del experimento UCD.....	86
Cuadro 12C. pH y porcentaje de ácido láctico en las muestras de carne del grupo 1b del experimento CD	87
Cuadro 13C. pH y porcentaje de ácido láctico en las muestras de carne del grupo 2b del experimento CD	88
Cuadro 14C. pH y porcentaje de ácido láctico en las muestras de carne del grupo 3b del experimento CD	89
Cuadro 15C. pH y porcentaje de ácido láctico en las muestras de carne del grupo 1c del experimento D.....	90
Cuadro 16C. pH y porcentaje de ácido láctico en las muestras de carne del grupo 2c del experimento D.....	91
Cuadro 17C. Determinación de los parámetros $L^* a^* b^*$ para el grupo 1a del experimento UCD.....	92
Cuadro 18C. Determinación de los parámetros $L^* a^* b^*$ para el grupo 2a del experimento UCD.....	93
Cuadro 18C. Determinación de los parámetros $L^* a^* b^*$ para el grupo 3a del experimento UCD.....	94
Cuadro 19C. Determinación de los parámetros $L^* a^* b^*$ para el grupo 1b del experimento CD	95
Cuadro 20C. Determinación de los parámetros $L^* a^* b^*$ para el grupo 2b del experimento CD	96
Cuadro 21C. Determinación de los parámetros $L^* a^* b^*$ para el grupo 3b del experimento CD	97
Cuadro 22C. Determinación de los parámetros $L^* a^* b^*$ para el grupo 1c del experimento D	98
Cuadro 23C. Determinación de los parámetros $L^* a^* b^*$ para el grupo 2c del experimento D	99

Cuadro 24C. Contenido de bases nitrogenadas volátiles totales (BNVT) para el grupo 1a del experimento UCD	100
Cuadro 25C. Contenido de bases nitrogenadas volátiles totales (BNVT) para el grupo 2a del experimento UCD	101
Cuadro 26C. Contenido de bases nitrogenadas volátiles totales (BNVT) para el grupo 3a del experimento UCD	102
Cuadro 27C. Contenido de bases nitrogenadas volátiles totales (BNVT) para el grupo 1b del experimento CD	103
Cuadro 28C. Contenido de bases nitrogenadas volátiles totales (BNVT) para el grupo 2b del experimento CD	104
Cuadro 29C. Contenido de bases nitrogenadas volátiles totales (BNVT) para el grupo 3b del experimento CD	105
Cuadro 30C. Contenido de bases nitrogenadas volátiles totales (BNVT) para el grupo 1c del experimento D	106
Cuadro 31C. Contenido de bases nitrogenadas volátiles totales (BNVT) para el grupo 2c del experimento D	107
Cuadro 32C. Contenido sustancias reactivas al ácido 2- tiobarbitúrico para el grupo 1b del experimento CD	108
Cuadro 33C. Contenido sustancias reactivas al ácido 2- tiobarbitúrico para el grupo 2b del experimento CD	109
Cuadro 34C. Contenido sustancias reactivas al ácido 2- tiobarbitúrico para el grupo 3b del experimento CD	110
Cuadro 35C. Contenido sustancias reactivas al ácido 2- tiobarbitúrico para el grupo 1c del experimento D	111
Cuadro 36C. Contenido sustancias reactivas al ácido 2- tiobarbitúrico para el grupo 2c del experimento D.....	112

Resumen

La carne de pollo es un alimento que se consume en gran medida a nivel nacional. Lo cual se debe a diversos factores, como costos accesibles en comparación con otros tipos de carne, incremento en la preferencia del consumidor, versatilidad en la preparación, diversos puntos de venta cercanos al consumidor, entre otros.

La carne de pollo posee un alto contenido de macronutrientes, pero es esta biodisponibilidad de nutrimentos lo que la hace susceptible al deterioro y por consiguiente a ser un alimento perecedero.

En el presente trabajo se evaluó el efecto de la Solución Electrolizada de Superoxidación (SES) con pH neutro sobre las características fisicoquímicas de la carne de pollo, comparado con una solución de hipoclorito de sodio a 35 ppm (NaClO) y un grupo control de solución salina fisiológica (SSF). Así mismo se evaluaron los cambios físicos (color) y químicos (pH, porcentaje de ácido láctico, bases nitrogenadas volátiles totales (BNVT) y sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico) en la carne de pollo durante su almacenamiento en refrigeración por 19 días.

Por otra parte se evaluó el efecto bactericida de la SES *in vitro*, corroborado con una microscopía electrónica de transmisión (MET).

Los resultados de esta investigación indican que la SES con pH neutro no altera las características físicas (color), ayuda a mantener el pH del músculo durante más tiempo, evita la formación de BNVT y compuestos de oxidación lipídica como el malondialdehído (MDA), además de retardar el deterioro de la carne de pollo contaminada con *Escherichia coli* O157:H7.

La SES puede ser considerada como una alternativa eficaz en la conservación de la carne de pollo contaminada con *Escherichia coli* O157:H7.

Introducción

Uno de los insumos del sector avícola que más es consumido en el país corresponde a la carne de pollo que es una fuente de proteína de bajo costo (con respecto a otras fuentes de proteína de carne), además existe una tendencia a consumir productos cárnicos con bajo contenido de grasa.

La carne de pollo es la fuente de proteína animal más consumida en México (PROFECO, 2013), y en las próximas décadas se espera que sea la más consumida a nivel mundial (OCDE-FAO 2013).

En la actualidad, los sistemas de Buenas Practicas de Higiene, así como sistemas HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Points) han ganado fuerza e implementación con sistemas de desinfección que tienen como un objetivo principal evitar Enfermedades de Transmitidas por Alimentos (ETA), estos sistemas incluyen el uso de diversos desinfectantes dentro de las cadenas productoras de los alimentos que no alteren la calidad y la inocuidad de los alimentos. (Wray, 2001).

Debido a esta necesidad de asegurar la inocuidad de los productos, es necesario buscar la implementación de nuevas técnicas de desinfección. En la industria alimentaria es necesaria la innovación de nuevos productos que ayuden en esta tarea. Aunque por otra parte también se ha vuelto importante la búsqueda de evitar la descomposición de alimentos perecederos como la carne de pollo. La conservación de productos del sector avícola favorece el abastecimiento de estos insumos a la población mexicana, evitando así la elevada importación de carne de pollo del extranjero. (SIAP, 2014)

Objetivo general

Evaluar el efecto de la Solución Electrolizada de Superoxidación (SES) con pH neutro sobre las características fisicoquímicas de la carne de pollo para determinar si favorece en su conservación.

Objetivos particulares

- Evaluar el efecto de los desinfectantes sobre la carga bacteriana de *Escherichia coli* O157:H7 en la carne de pollo contaminada con este patógeno.
- Analizar el efecto de los desinfectantes sobre el color de la carne de pollo
- Determinar el efecto de los desinfectantes sobre el pH y el porcentaje de ácido láctico en la carne de pollo
- Analizar el efecto de los desinfectantes en la formación de bases volátiles nitrogenadas totales en la carne de pollo
- Comparar el efecto de los desinfectantes sobre la formación de malondialdehído (MDA) en la carne de pollo

Hipótesis

El uso de la SES ayudará a retardar la descomposición de la carne de pollo contaminada con *Escherichia coli* O157:H7 sin afectar las características físicas y químicas de la misma, mostrando así que es una alternativa en la conservación de la carne de pollo durante su almacenamiento en refrigeración.

1.0 Antecedentes

1.1 Sector avícola

El sector avícola mexicano ha experimentado un crecimiento notable en las últimas décadas, jugando un papel importante en la alimentación. La avicultura mexicana en 2012, aportó el 0.77 % en el PIB total, el 19.7 % en el PIB agropecuario y el 40.9 % en el PIB pecuario. Además cabe mencionar que la avicultura nacional generó hasta el 2013 1 millón 188 mil empleos, y el 60% de los empleos los genera la rama avícola de pollo. (UNA, 2015)

1.2 Producción y consumo de pollo

La avicultura es la actividad pecuaria más importante en México desde el punto de vista del valor de la producción que genera. Durante el 2014 la producción de huevo y pollo participaron con 26 y 15 por ciento del valor de la productividad ganadera en el país. (UNA, 2015)

Hasta el 2014 el consumo de insumos agrícolas, presentó una tasa de crecimiento a un ritmo anual de 2.8 %, y cabe destacar que la avicultura es la principal industria transformadora de proteína vegetal en proteína animal. (UNA, 2015)

La producción de pollo en México, durante el periodo de 1994 a 2014 ha aumentado a un ritmo de crecimiento anual del 4.3 %. Hasta el 2014 México se posicionó entre los diez primeros países productores de carne de pollo (ver Figura 1).

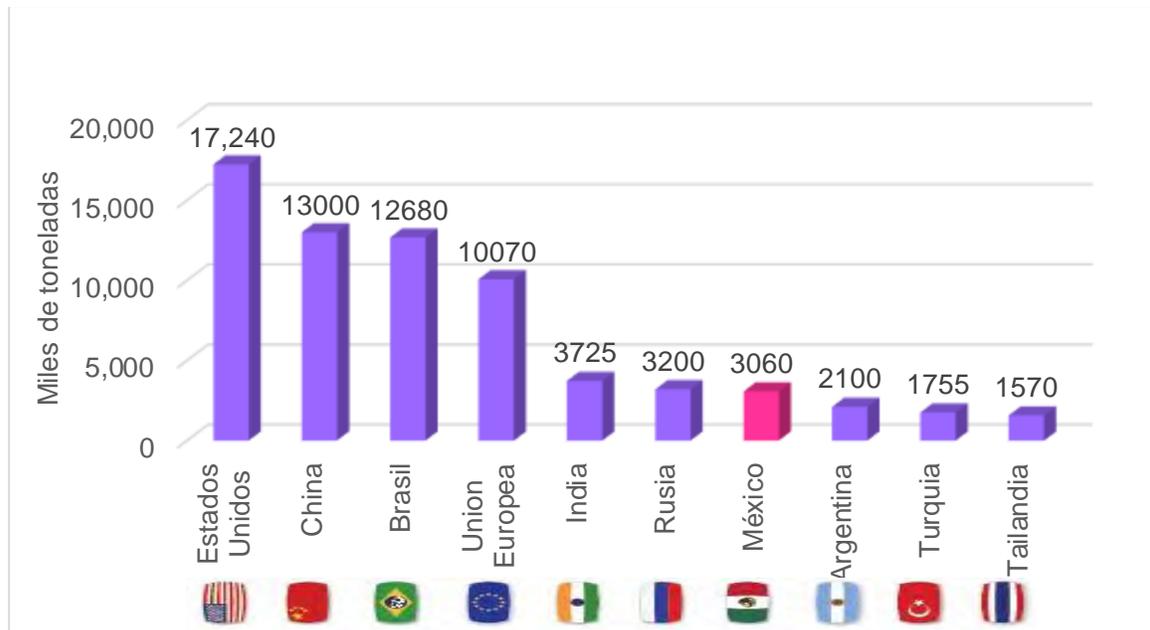


Figura 1. Principales países productores de carne de pollo. (Fuente: Modificado de UNA 2015)

La producción de pollo ha aumentado a un ritmo de crecimiento anual del 4.3 por ciento; en el 2001 se produjeron 3.002 millones de toneladas de carne de pollo, muy por encima de los demás cárnicos.

El sector avícola en México aporta el 63 % de la producción pecuaria, y casi el 35 % de este aporte corresponde a la carne de pollo, como se observa en la Figura 2.

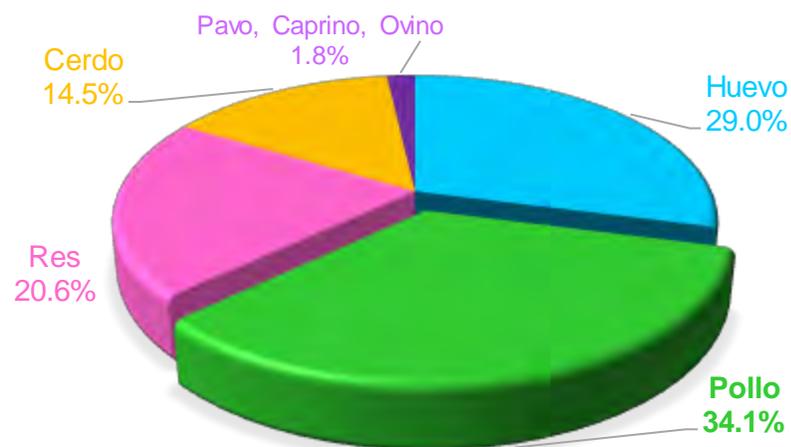


Figura 2. Producción pecuaria de los insumos cárnicos. (Fuente modificado de UNA 2015)

Durante el 2014, el 94 % de la producción de carne de pollo en México se concentró en los siguientes estados y regiones de la República Mexicana: La Laguna, Veracruz, Querétaro, Jalisco, Aguascalientes, Nuevo León, Puebla, Chiapas, San Luis Potosí, Michoacán, Yucatán, Estado de México, Sinaloa, Guanajuato y Morelos. Ver Figura 3 (UNA, 2015).



Figura 3. Principales estados productores de pollo. (Fuente UNA 2015)

Aunque la producción de la carne de pollo ha presentado tendencias de aumento, México aún no es capaz de satisfacer la demanda nacional de consumo, por lo cual las importaciones de carne de ave, se han incrementado gradualmente en el 2014 ascendieron a 603,630 toneladas. Siendo Estados Unidos el principal proveedor de carne de pollo (OCDE-FAO, 2013; UNA, 2015).

En México el sector avícola juega un papel importante, ya que 6 de cada 10 personas incluyen en su dieta productos avícolas (principalmente huevo y pollo). Esto se debe, en parte, a que los precios se han reducido, a que ambos son

alimentos nutritivos y versátiles en su preparación. El consumo per cápita hasta el 2014 fue de 30 Kg de carne. (UNA, 2015)

De acuerdo con reportes de la USDA, México se posicionó hasta el 2014 entre los 10 principales países consumidores de carne de pollo (ver Figura 4).

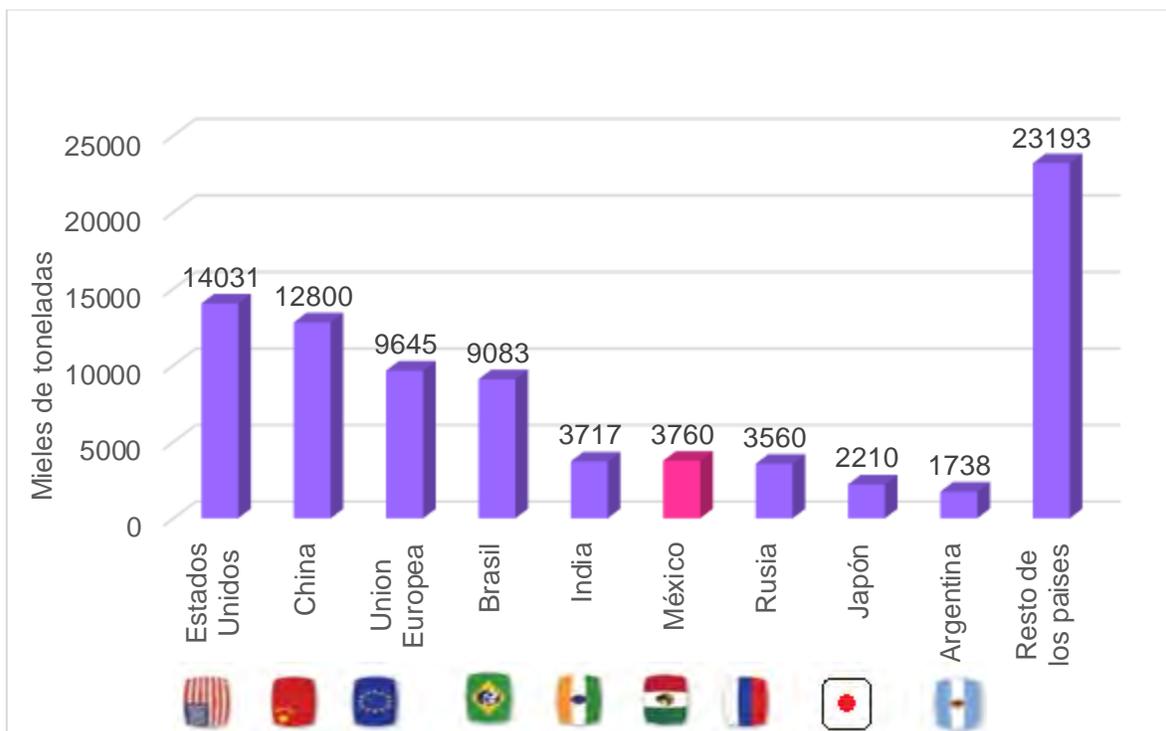


Figura 4. Principales países consumidores de carne de pollo. (Fuente: Modificado de USDA 2014)

1.3 Contaminación de la carne de pollo

Una de las principales vías de contaminación de la carne de ave es el manejo de la canal durante el proceso de evisceración, pues constituye una de las etapas de mayor riesgo en el procesamiento de la misma. Los microorganismos como *Escherichia coli* O157:H7 pueden ser transferidos a las canales por la ruptura del tracto gastrointestinal por las máquinas evisceradoras o por los operarios. Las infecciones por esta bacteria patógena experimentaron un aumento exponencial a partir de su primera aparición. En EUA, Japón, Australia, Argentina, Nueva Zelanda han reportado brotes de *E. coli* O157:H7 causantes de Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA) donde la carne de pollo se ha visto involucrada. México también

ha reportado brotes de esta bacteria a través de la Secretaria de Salud (Rahimi, *et al.* 2010, FAO-WHO, 2011, Hernández, 2011).

1.4 Escherichia coli O157:H7

Escherichia coli O157: H7 es una bacteria con una morfología bacilar, de tamaño promedio de 0.5 μ de ancho por 3 μ de largo; puede crecer a temperaturas que oscilan entre 7-50 °C, con una temperatura óptima de 37 °C. Pueden proliferar en alimentos ácidos, hasta a un pH de 4,4, y en alimentos con una actividad de agua (Aw) mínima de 0.95. Son bacilos no esporulados, fermentan la glucosa y la lactosa, son catalasa positivo, oxidasa negativo. (OMS, 2011; UNAM, 2011).

Escherichia coli O157:H7 recibe esta definición de serotipo debido a la combinación específica de los antígenos O y H; la identificación del antígeno somático hace referencia al serogrupo de la cepa. El antígeno O es un polisacárido termoestable, que forma parte del lipopolisacárido (LPS) presente en la membrana externa de la bacteria. El antígeno K corresponde al polisacárido capsular que envuelve a la bacteria. Actualmente se conocen un total de 185 antígenos somáticos, 56 flagelares y 60 capsulares. (UNAM, 2011).

Su importancia como problema de salud pública se hizo patente en 1982, después de un brote registrado en los Estados Unidos de América (OMS, 2011)

Una minoría de las cepas de *E. coli* son capaces de causar enfermedad en seres humanos por diferentes mecanismos, EHEC es una variedad que produce grandes cantidades de toxinas (como la verotoxina VT, que también es producida por *Shigella dysenteriae* que causa grave daño a la mucosa del intestino. Se transmite al hombre principalmente por el consumo de alimentos contaminados, como productos de carne picada cruda o poco cocida, leche cruda, y hortalizas y semillas germinadas crudas contaminadas. (FDA, 2014; OMS, 2011)

E. coli O157: H7 se ha visto implicado en muchas ETA's, los principales alimentos involucrados son carne molida mal cocida, pero también se han presentado brotes

en alfalfa, jugos de fruta no pasteurizados, salami curado, lechuga, carne de caza, y cuajadas de queso y leche cruda. (CDC, 2016)

Entre los síntomas de la enfermedad causada por esta bacteria, destacan los calambres abdominales y la diarrea, que puede progresar en algunos casos a diarrea sanguinolenta (colitis hemorrágica). También puede haber fiebre y vómitos. El periodo de incubación varía entre tres y ocho días, con una mediana de tres a cuatro días. La mayoría de los pacientes se recuperan en el término de 10 días, pero en un pequeño porcentaje de los casos (especialmente niños pequeños y ancianos) la infección puede conducir a una enfermedad potencialmente mortal, como el síndrome hemolítico urémico (SHU). (OMS, 2011)

1.5 Desinfección de la carne de pollo

Para evitar estas ETA's se recomienda limpiar los utensilios y superficies con los que tiene contacto la carne de pollo durante el sacrificio con NaClO a concentración de 20-50 ppm, pero su aplicación no está exenta de inconvenientes puesto que conlleva a la aparición de subproductos de carácter tóxico (cloraminas, dicloraminas y trihalometanos), además de irritar las mucosas (riesgo para el operario) y ser corrosivo (USDA, 1999; Kim, *et. al.* 2000; Forsythe y Hayes, 2002).

1.6 Solución Electrolizada de Superoxidación (SES)

La Solución Electrolizada de Superoxidación de pH neutro es un germicida que se genera mediante un proceso de electrólisis de una solución de NaCl (como se muestra en la Figura 5), generando así de manera controlada ácido hipocloroso estable. La SES ya ha sido usada con resultados favorables en la desinfección de alimentos, superficies y ambientes; su método de obtención es barato, representa una opción ecológica al no manejar productos químicos potencialmente peligrosos. Su mecanismo de acción se atribuye al efecto de oxidación de los grupos sulfhidrilo (-SH) y aminoácidos de la pared bacteriana, con lo que se afecta el proceso de

respiración y nutrición de los microorganismos (Kim *et. al.* 2000; Cabello, 2009; Duran, 2010; Tabernero, *et. al.* 2013).

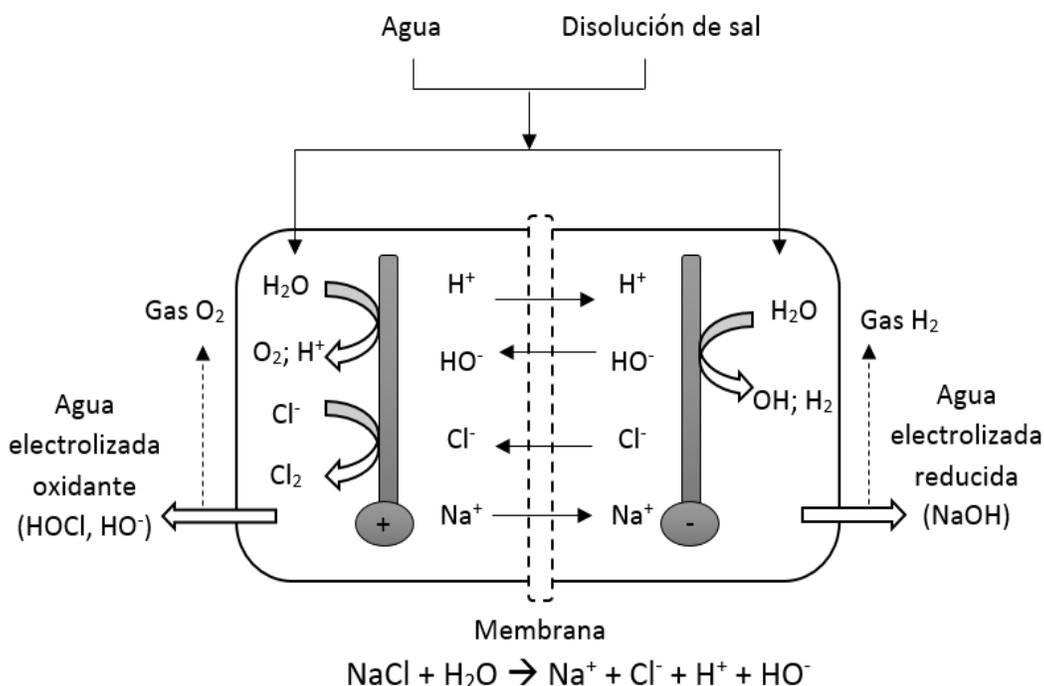


Figura 5. Esquema del proceso de electrólisis para la formación de la SES. (Fuente: Tabernero de Paz, 2013)

1.7 Características fisicoquímicas de la carne de pollo y su influencia en la conservación

La carne en general es un alimento con alto valor nutricional, pues posee proteínas, aminoácidos, lípidos, vitaminas y minerales. Sin embargo, debido a su alto contenido y disponibilidad de nutrientes y humedad, también es susceptible a un rápido deterioro, causado principalmente por el desarrollo microbiano, así como por otros mecanismos como lo son la oxidación de lípidos, la degradación proteolítica, los cambios en el color, entre otros (SAGARPA, 2013; Tirado *et al.*; 2005; Restrepo y Montoya, 2010).

El manejo de la carne de pollo durante el sacrificio y los sistemas de higiene que se emplean por los operarios a lo largo de la cadena de producción, distribución y

comercialización influyen de manera significativa en la calidad de la carne (SAGARPA, 2013).

Los principales mecanismos involucrados en la conservación de la carne son: el desarrollo microbiano, la oxidación lipídica, formación de aminas biogénicas y procesos autolíticos; pero la velocidad con la que ocurren estas reacciones dependen de características intrínsecas de la carne así como a factores extrínsecos asociados al manejo de la misma los cuales se muestran en el Cuadro 1 (SAGARPA, 2013).

Cuadro 1. Factores asociados a la conservación de la carne de pollo (Fuente SAGARPA, 2013).

Intrínsecos	Raza y régimen de alimentación Edad Manejo pre-mortem Propiedades químicas (pH, acidez, potencial redox, etc.)
Extrínsecos	Temperatura de almacenamiento Tipo de sacrificio Sistema de empaque Manejo post-mortem Carga microbiana

El desarrollo de microorganismos contaminantes es el principal factor responsable de la alteración de la carne fresca, las reacciones de oxidación se han reconocido como el segundo factor en importancia, ya que pueden modificar las características de aroma, sabor, color y textura, aún durante el almacenamiento a bajas temperaturas, (SAGRAPA, 2013).

Una porción significativa de la carne y productos cárnicos son desechados debido a la pérdida de frescura en las diferentes etapas de la cadena productiva. La carne y sus derivados con signos de descomposición no sólo representan una merma en la cadena productiva, también constituyen pérdidas económicas; y son una fuente de contaminación, que pueden afectar a otros alimentos, a las instalaciones y al ambiente. Además de representar un riesgo a la salud de los consumidores convirtiéndose en un problema sanitario (SAGARPA, 2013).

Es por ello que resulta indispensable determinar el estado de descomposición de la carne de pollo, y las propiedades como el pH, la acidez, capacidad de retención de agua (CRA), la formación de bases nitrogenadas totales y la formación de malondialdehído (como indicador de la oxidación lipídica), ya que son considerados los principales indicadores de la calidad de la carne fresca así como de su idoneidad para la elaboración de otros productos cárnicos (SAGARPA, 2013).

1.7.1 Color de la carne de pollo

El color de la carne fresca es un atributo de especial importancia, ya que el consumidor define su criterio y decisión en la compra de carne fresca fundamentalmente en este parámetro. El color que vemos en la carne es el resultado de una fuente de luz que interactúa con pigmentos que tienen la capacidad de absorber o reflejar fracciones de luz, de modo que lo que se refleja es el color que nosotros percibimos. (SAGARPA, 2013)

La evaluación del color se puede realizar mediante diversas técnicas espectrofotométricas o por análisis de imágenes, independientemente de la capacidad de percepción del ojo humano. La determinación del color a través de la espectrofotometría de reflectancia es uno de los métodos objetivos más utilizados debido a su estrecha correlación con la percepción visual humana (Mancini y Hunt, 2005).

Un espacio de color puede ser descrito como un método para expresar el color de un objeto usando algún tipo de anotación, como pueden ser los números. La Commission Internationale de l'Éclairage (CIE) es considerada la autoridad en la ciencia de la luz y el color y ha definido espacios de color, incluyendo CIE XYZ, CIE L*C*h, y CIE *Lab*, para expresar el color objetivamente. (Konika Milnolta Sensing, Inc., 2003)

El espacio de color ***Lab***, también referido como CIELAB, es actualmente uno de los espacios de color más usados para evaluar el color de un objeto, pues permite evaluar los atributos de color, identificar inconsistencias, y expresar precisamente

los resultados en términos numéricos. Cuando se clasifican los colores, se pueden expresar en términos de matiz, luminosidad y saturación. Al crear escalas para éstos atributos, se puede expresar el color de manera más precisa. (Konika Minolta Sensing, Inc., 2003)

El espacio de color **Lab** fue modelado en base a una teoría de color oponente que establece que dos colores no pueden ser rojo y verde al mismo tiempo o amarillo y azul al mismo tiempo. Como se muestra a continuación en la figura 6, donde se observa la representación de cada parámetro, es decir, **L**=luminosidad, **a**= coordenadas rojo/verde (+a indica rojo, -a indica verde) y **b** = coordenadas amarillo/azul (+b indica amarillo, -b indica azul). (Konika Minolta Sensing, Inc., 2003).

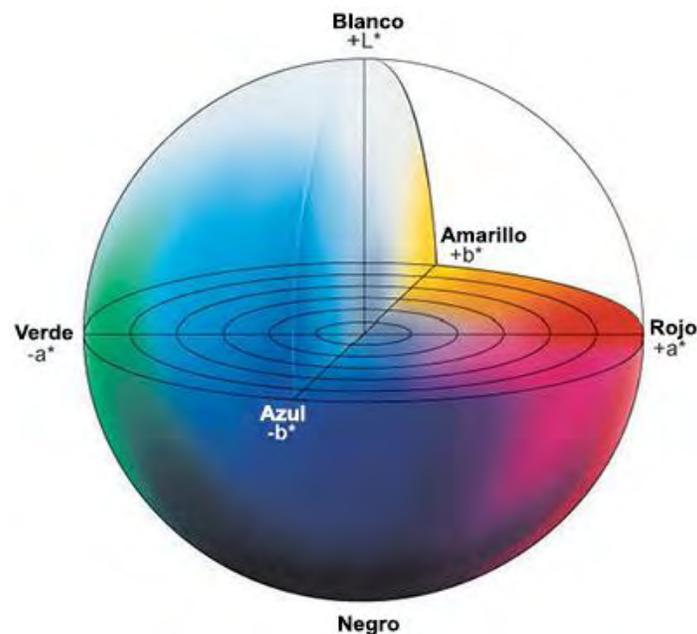


Figura 6. Esquema del espacio de color CIE *Lab* Fuente: Konika Minolta Sensing, Inc., 2003

La determinación del color mediante espectrometría de reflectancia se basa en la determinación de la cantidad de luz transmitida o reflejada con relación a una referencia estándar dentro de la zona del espectro visible (380-750 nm). El espectrofotómetro de reflectancia consta de una fuente de luz que al incidir sobre la

muestra provoca una reflexión difusa que pasa por una serie de filtros. Cada filtro tiene acoplado un fotorreceptor que genera una respuesta, obteniendo los valores triestímulo. El espacio CIELab es un sistema tridimensional definido por tres coordenadas adimensionales **L**, **a** y **b** a partir de los cuales se pueden obtener los valores de hue (tono o matiz) y croma (intensidad de color). (Konika Minolta Sensing, Inc., 2003).

Al realizar la determinación de color en el músculo, el parámetro de **L** (luminosidad) se correlaciona con el estado físico de la carne, a la estructura de las fibras musculares y a la cinética implicada para establecer el rigor mortis. (SAGARPA, 2011).

El tono del color de la carne de pollo, es determinado por el estado químico de la mioglobina (Mb, de color rojo púrpura; oximioglobina, MbO₂, de color rojo vivo; metamioglobina, MetMb, de color pardo). El tono en la carne fresca está relacionada con los factores post-mortem, mientras que el croma, se relaciona más con la concentración de mioglobina, que influye directamente en la saturación del color del músculo y se relaciona principalmente con los factores ante-mortem (tipo de músculo, edad, alimentación, genética, etc.). (SAGARPA, 2011).

1.7.2 pH y acidez (porcentaje de ácido láctico expresado en %)

El pH muscular del animal recién sacrificado es aproximadamente de 6.8-7.2, después de la muerte el pH disminuye por la hidrólisis del glucógeno muscular y la consecuente acumulación de ácido láctico, alcanzando valores de pH entre 5.4 a 5.8 a las en el caso del pollo esto ocurre entre las 2-4 horas post mortem. Pasada la etapa del rigor-mortis y durante el almacén, el pH de la carne aumenta gradualmente, debido principalmente al desarrollo microbiano acompañado por la generación de amoníaco y de otros compuestos aminados que alcalinizan la carne. (SAGARPA 2013)

La velocidad con la que el pH aumenta durante el almacén, depende fundamentalmente de la especie animal, de la carga microbiana, del nivel de

glucógeno en la etapa pre-rigor, del pH post mortem, de las condiciones de envase y temperatura de almacén. Se sospecha de una alteración, cuando el pH de la carne refrigerada alcanza valores próximos a 6.2, siendo la descomposición evidente a valores de pH de 6.5. (SAGARPA 2013)

Cabe señalar que la carne DFD (Oscura, Dura y Seca por sus siglas en inglés Dark, Firm and Dry) y PSE (Pálida, Suave y Exudativa por sus siglas en inglés Pale, Soft and Exudative) presentan valores de pH anormales, resultado del manejo inadecuado de las aves antes y durante el sacrificio, sin que implique la presencia de una elevada carga microbiana (Castrillón *et. al.*, 2005).

La carne DFD que se caracteriza por valores de pH elevados, es más propensa a la alteración microbiana, ya que la velocidad de crecimiento de la mayoría de los microorganismos alterantes aumenta a medida que el pH se acerca a la neutralidad. Además de retener una mayor cantidad de agua, la que por ser altamente disponible, facilita el crecimiento de los microorganismos. (Castrillón *et. al.*, 2005).

1.7.3 Formación de bases nitrogenadas volátiles totales (BNVT)

El músculo *post-mortem* ofrece un ambiente altamente nutritivo para las bacterias, ya que satisface las necesidades básicas para su crecimiento. La descarboxilación de aminoácidos por parte de ciertos géneros de bacterias de alteración presentes en la carne, forman compuestos básicos nitrogenados conocidos como aminas biogénicas, los cuales derivan de reacciones de descarboxilación de aminoácidos o la aminación de aldehídos y cetonas. (SAGARPA 2013).

Los factores que se requieren para la formación de aminas biogénicas, incluyen la disponibilidad de aminoácidos libres, la presencia de microorganismos descarboxilasa positivo y de condiciones necesarias para el crecimiento microbiano. (SAGARPA 2013).

La producción de estos compuestos aminados en alimentos puede verse afectada por condiciones de temperatura, sales, presencia de carbohidratos fermentables, presencia de oxígeno, potencial redox y pH (Signorini *et. al.*, 2007 y 2009).

La determinación de estas aminas es importante no solo desde el punto de vista toxicológico, sino también porque estos compuestos pueden utilizarse como indicador del grado de alteración de los alimentos. En carne fresca, los recuentos elevados de putrescina, cadaverina y tiramina han sido relacionados con concentraciones elevadas de *Pseudomonas* spp., enterobacterias y bacterias lácticas, respectivamente (De Mey *et. al.*, 2012).

El desarrollo de olores y sabores desagradables durante el almacenamiento de la carne, se deben a la acumulación de metabolitos de bajo peso molecular provenientes de reacciones químicas, de la actividad enzimática endógena y principalmente del desarrollo de microorganismos. La cuantificación del nitrógeno básico volátil total incluye a todas las bases nitrogenadas volátiles producidas por reacciones de descarboxilación de aminoácidos, así como al amoniaco producido por desaminación de aminoácidos entre otros compuestos nitrogenados de bajo peso molecular generalmente derivados de las reacciones de deterioro de proteínas, péptidos y aminoácidos. (SAGARRPA 2013).

El nitrógeno básico volátil total (NBVT) se obtiene mediante la valoración de las bases que tienen una baja temperatura de ebullición (cerca de los 40°C), es así como se tiene la certeza de que el nitrógeno que se está cuantificando corresponde al NBVT. Se establece como límite máximo de aceptación para carne fresca valores de 25 mg de Nitrógeno/100 g carne (FAO/WHO, 2012; NMX-F-362-SSCFI-2011, Kirk *et. al.*, 2006)

1.7.4 Oxidación lipídica

La grasa contenida en la carne de pollo tiene una gran influencia en el sabor. El contenido de lípidos va a depender de múltiples factores como la especie del animal, la alimentación, edad, genética, sexo, entre otros. (SAGARPA, 2011)

El contenido de grasa en la carne refleja la susceptibilidad a la oxidación, el consecuente desarrollo de sabores rancios y alteraciones del color. La oxidación

lipídica es un factor de deterioro de la calidad de la carne, provocando cambios en el sabor, textura, apariencia y valor nutritivo. (SAGARPA, 2011)

Puesto que la descomposición por oxidación tiene gran importancia tanto desde el punto de vista de la aceptabilidad como de la calidad nutritiva de los productos alimentarios, se han planteado muchos métodos para valorar el avance de la oxidación. Uno de los análisis más utilizados para evaluarlo es el análisis con ácido 2-tiobarbitúrico (TBA). (Badui, 2013).

Las sustancias capaces de reaccionar con el TBA aparecen solo en cantidades sustanciales a partir de la oxidación de los ácidos grasos que contienen tres o más dobles enlaces, por otra parte el malonaldeído también procede de la descomposición de los endoperóxidos relacionados con las prostaglandinas producidas durante la autooxidación de los ácidos grasos poliinsaturados (Badui, 2013).

El grado de oxidación de lípidos de la carne se determina con base en la cantidad de sustancias reactivas al ácido-2-tiobarbitúrico (TBAR's) expresadas en equivalentes de malondialdeído (MDA) /kg de muestra. Donde el MDA (al igual que otros aldehídos son productos derivados de la descomposición de lípidos peroxidados), reacciona en medio ácido con el ácido 2-tiobarbitúrico formando un complejo rojizo cuya concentración es proporcional a la absorbancia entre 530-535 nm como se muestra en la Figura 7. Valores de TBA superiores a 0.7 se consideran inaceptables para carne fresca. (SGARPA, 2013).

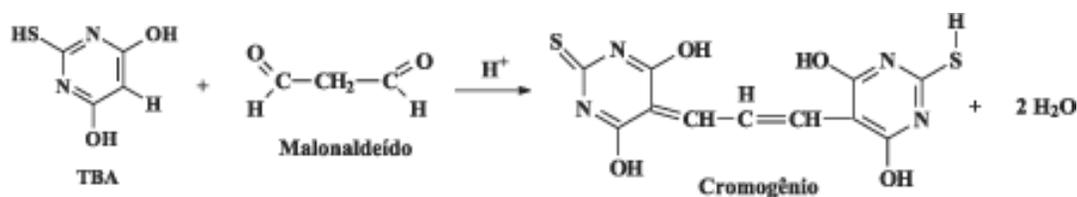


Figura 7. Reacción del ácido 2-tiobarbitúrico con malondialdeído y formación del complejo colorido (Fuente: modificado de SAGARPA 2013)

2.0 Metodología

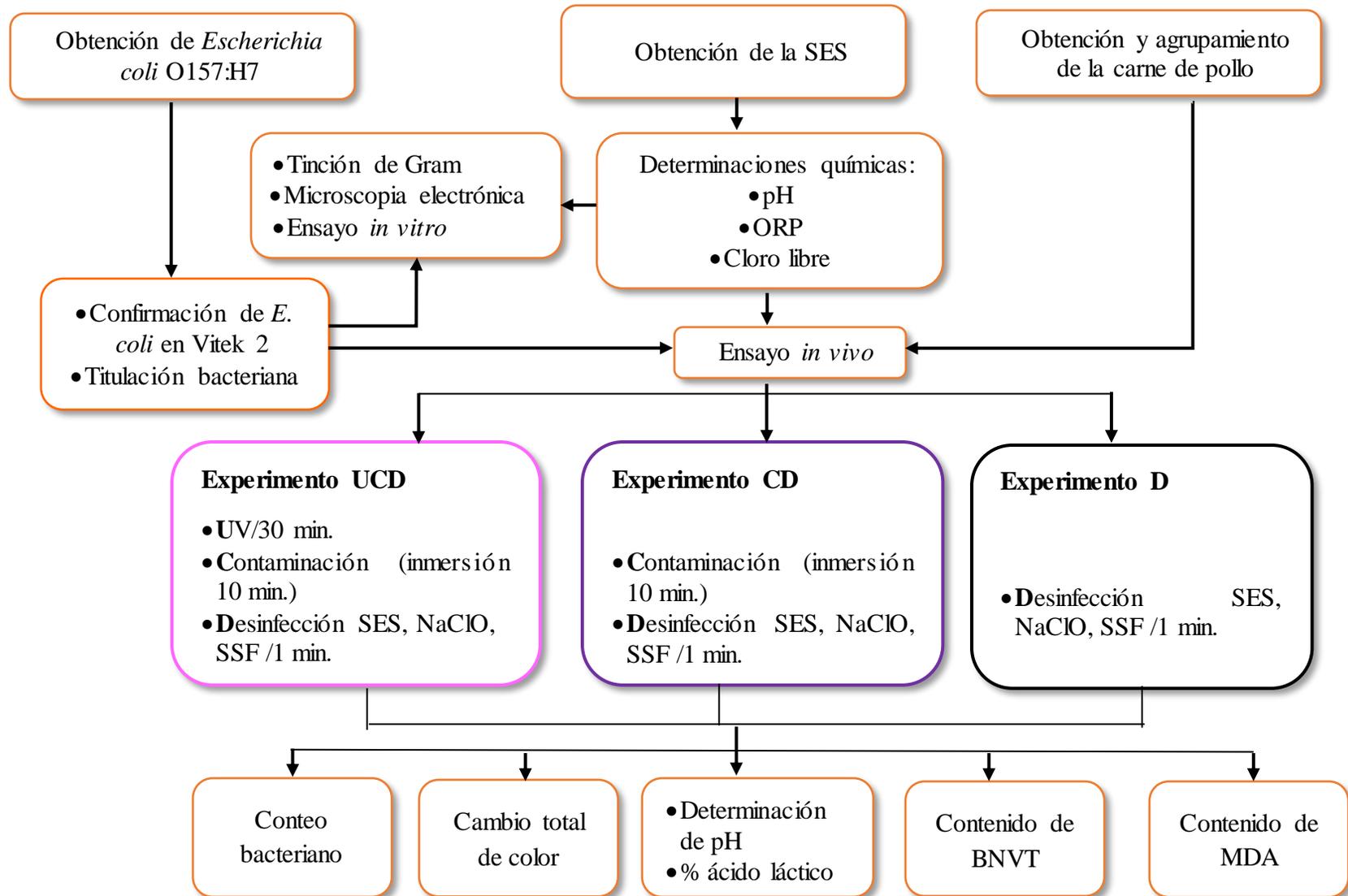


Figura 8. Metodología

Los procedimientos realizados en cada proceso de la metodología se encuentran descritos en el Anexo A.

Se realizaron tres experimentos diferentes, agrupados como se muestra en el Cuadro 2, el experimento 1 que de ahora en adelante será nombrado como **UCD**, recibe esta nomenclatura debido a que fue sometido a luz **UV/Contaminación/Desinfección**; el experimento 2 será llamado **CD** debido que fue sometido únicamente a la **Contaminación/Desinfección**, y finalmente el experimento 3 será nombrado como **D** pues únicamente recibió la **Desinfección**.

Cuadro 2. Agrupamiento y planeación experimental

Grupo	Experimento UCD			Experimento CD			Experimento D	
	1a	2a	3 ^a	1b	2b	3b	1c	2c
No. de piezas de pechuga de pollo	5	5	5	5	5	5	5	5
Tratamiento de luz UV	✓	✓	✓	NA	NA	NA	NA	NA
Contaminación	✓	✓	✓	✓	✓	✓	NA	NA
Desinfección	SES	NaClO	SSF	SES	NaClO	SSF	SES	SSF
Total de piezas de pechuga de pollo	15			15			10	

✓ Proceso efectuado para ese experimento
 NA: No Aplicado

La carne designada en el experimento **UCD** fue sometida a un proceso de desinfección con luz UV previa a la contaminación con *Escherichia coli* O157:H7 debido a que autores como Lyon y sus colaboradores en 2007 señalan que es un tipo de desinfección aplicable a la superficie de carne de pollo, y por esta razón se decidió aplicar irradiación con la finalidad de eliminar la carga bacteriana procedente de una contaminación cruzada o producto de un mal manejo de la carne durante es deshuese o su transporte.

3.0 Resultados y discusión

3.1 Reporte de confirmación de *Escherichia coli* O157:H7

La cepa de *E. coli* fue adquirida de ATCC, con la finalidad de asegurar que esta cepa fuera pura, pero como complemento se decidió someter a la bacteria a un análisis de confirmación y para ello se utilizó el equipo Vitek 2 el cual se muestra en la Figura B1 del anexo B.

Teniendo un porcentaje elevado de probabilidad de confirmación de la cepa de *Escherichia coli*, (99%) se tiene la certeza de que se utiliza una cepa pura y correspondiente al microorganismo seleccionado para hacer la contaminación en este experimento.

3.2 Tinción de Gram

Se realizó una tinción de Gram de *Escherichia coli* O157:H7 después de estar en contacto con los desinfectantes (SES, NaClO y SSF) con la finalidad de intentar identificar una alteración en la pared celular y como consecuencia una alteración en la tinción. A continuación se muestra en la Figura 9 las imágenes de la bacteria en contacto con los desinfectantes mencionados.

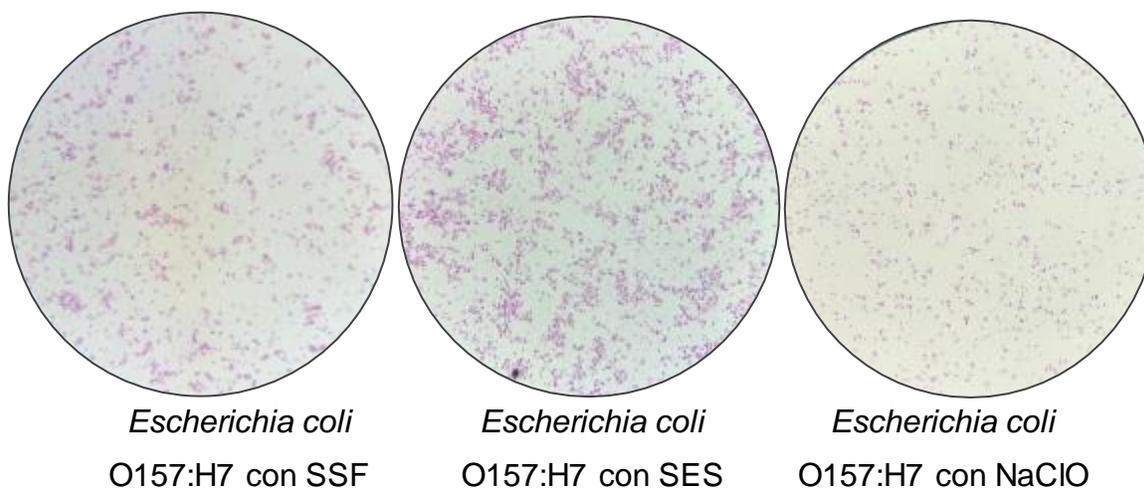


Figura 9. Tinción de Gram para *Escherichia coli* O157:H7 con acción de los desinfectantes

Se observa a *E. coli* como un bacilo Gram negativo, por lo que se puede observar una coloración rosa. El uso de los desinfectantes no causa un cambio en la coloración en comparación al control de SSF, se observa una coloración típica de un bacilo Gram negativo otorgada por la safranina que se contiene en la pared celular.

3.3 Análisis químico de las soluciones desinfectantes.

A las soluciones desinfectantes se les realizó un análisis para conocer sus propiedades químicas, los resultados se muestran en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Análisis químico de las soluciones desinfectantes

Muestra	ppm Cl	pH	ORP
SES	76.67 \pm 0.22	8.10 \pm 0.21	877 \pm 17.91
NaClO	30.16 \pm 0.54	7.36 \pm 0.28	790 \pm 20.19
ST (SSF)	0	5.71 \pm 0.3	371 \pm 14.7

En el caso de la SES con pH neutro el ORP se encuentra dentro de los intervalos esperados (800-900 mV), no es el caso para los valores de pH de acuerdo con Durán en 2010 el pH de la SES debe oscilar entre 6.4 -7.5, según su investigación a estas condiciones se presenta mayor estabilidad y efectividad microbicida; por otra parte se sabe que en concentraciones de 56-60 ppm de cloro residual se ha obtenido un buen efecto antimicrobiano (Kim *et. al.*, 2000), por lo que la SES a evaluar se encontró en un valor arriba de lo esperado.

La solución de NaClO, no tiene la concentración esperada de cloro libre, aunque esto no afecto su acción germicida determinada con el porcentaje de reducción antes mencionado

3.4 Ensayo *in vitro*

La determinación del porcentaje de reducción de la actividad microbiana *in vitro* se basó en la NMX-BB-040-SCFI-1999, donde se establece que un producto germicida eficiente debe lograr un 99.99% de reducción bacteriana después de 30 segundos de acción, en la Cuadro 4 se muestran los resultados obtenidos.

Cuadro 4. Resultados del ensayo *in vitro* para el porcentaje de reducción bacteriana de *E. coli* O157:H7

Tratamiento de desinfección	Cuenta viable (Log UFC/mL)	Reducción bacteriana %
Control (ST)	9.27 ± 0.18	NA
SES	< 3	> 99.999
NaClO	< 3	> 99.999

NA: No Aplica

De acuerdo con los resultados mostrados durante el ensayo *in vitro*, la SES y el NaClO (35 ppm) son dos germicidas eficaces contra *Escherichia coli* O157:H7, pues lograron un porcentaje de reducción >99.999%, en un tiempo de acción de 30 segundos de contacto.

3.5 Microscopia electrónica de transmisión (MET)

Al no observar una alteración en la pared celular con una tinción de Gram, se optó por realizar una MET para hacer evidente este daño.

Dentro de las investigaciones que se han realizado evaluando la SES como agente antimicrobiano en alimentos, ningún estudio ha realizado una microscopia electrónica de transmisión (MET) para identificar si la SES produce un efecto sobre la pared celular de las bacterias.

Es por ello que se decidió realizar este análisis para poder ver los posibles daños causados en las células como se muestra en la Figura 10.

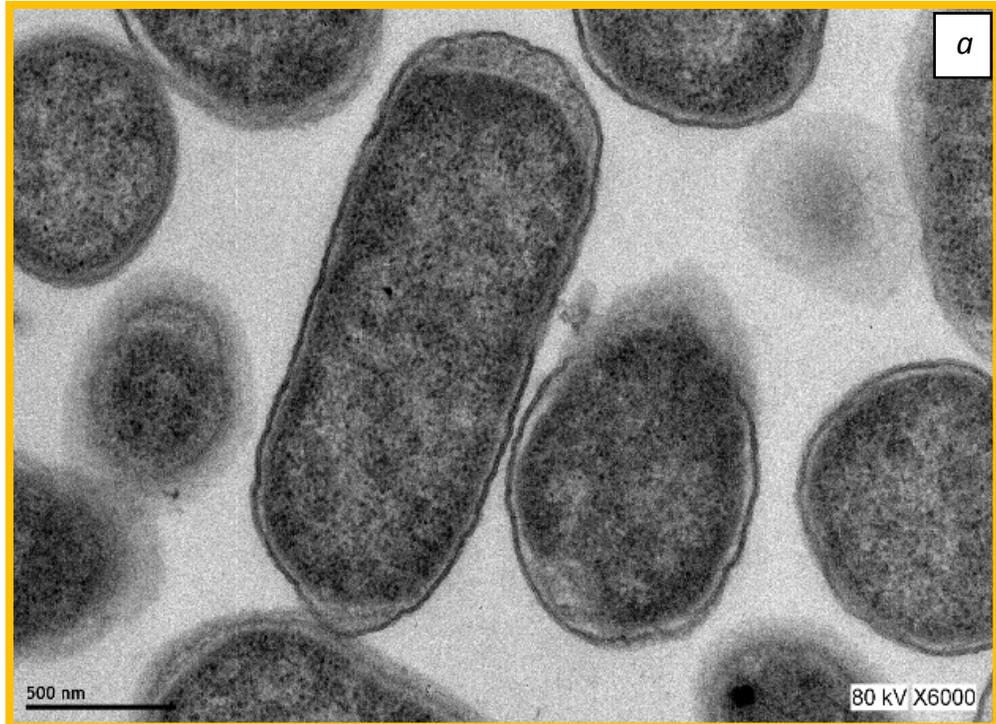


Figura 10. Microscopia Electrónica de Transmisión de *Escherichia coli* O157:H7 vista a 6000 y 7500 aumentos con acción de **a)** Solución Salina Fisiológica (SSF) **b)** SES

En la Figura 10a, se observa una célula de *E. coli* íntegra, con los bordes definidos los cuales corresponden a la pared celular, mientras que la Figura 10b pone de manifiesto el efecto de la Solución Electrolizada de Superoxidación sobre la pared celular bacteriana provocando así una deformación (señalado con las flechas rojas). Autores como Feliciano y sus colaboradores en 2012, realizaron estudios con SES en *E. coli*, también mostraron una MET e indican que este es un daño evidente a las células bacterianas.

Este efecto sobre la bacteria se debe a que la SES tiene HClO (ácido hipocloroso) como componente principal, ésta sustancia es la responsable del alto potencial de óxido reducción (ORP) por lo que es responsable de la oxidación de los grupos sulfhidrido de la pared celular; es debido a esto que procesos naturales como la respiración, síntesis proteica y la formación de ATP se ven afectados (Marriott y Gravani, 2006; Cabello, 2009).

En el caso del hipoclorito de sodio se sabe que hay una reacción entre el cloro y el grupo amino formando cloraminas que interfieren en el metabolismo celular, el cloro posee una acción antimicrobiana inhibiendo enzimas esenciales de las bacterias por medio de oxidación. También puede degradar ácidos grasos de la membrana celular (Balandro, 2007).

3.6 Conteo bacteriano de la carne de pollo (evaluación de la contaminación *in vivo*)

Ya que se conoce el efecto bactericida de los desinfectantes, así como las características químicas de los mismos. Se evaluó la acción de los desinfectantes sobre la carne de pollo, contaminada con *Escherichia coli* O157:H7. Para hacer visible la participación de las soluciones se requirió hacer un conteo bacteriano.

La Figura 11 muestra los resultados del conteo bacteriano para el experimento **UCD** (UV/Contaminación/Desinfección) **(a)**, **CD** (Contaminación/Desinfección) **(b)** y **D** (Desinfección) **(c)** respectivamente; durante este tiempo la carne se mantuvo en bolsas de polietileno estériles en refrigeración (4°C). El conteo bacteriano se realizó a los días 1 y 8.

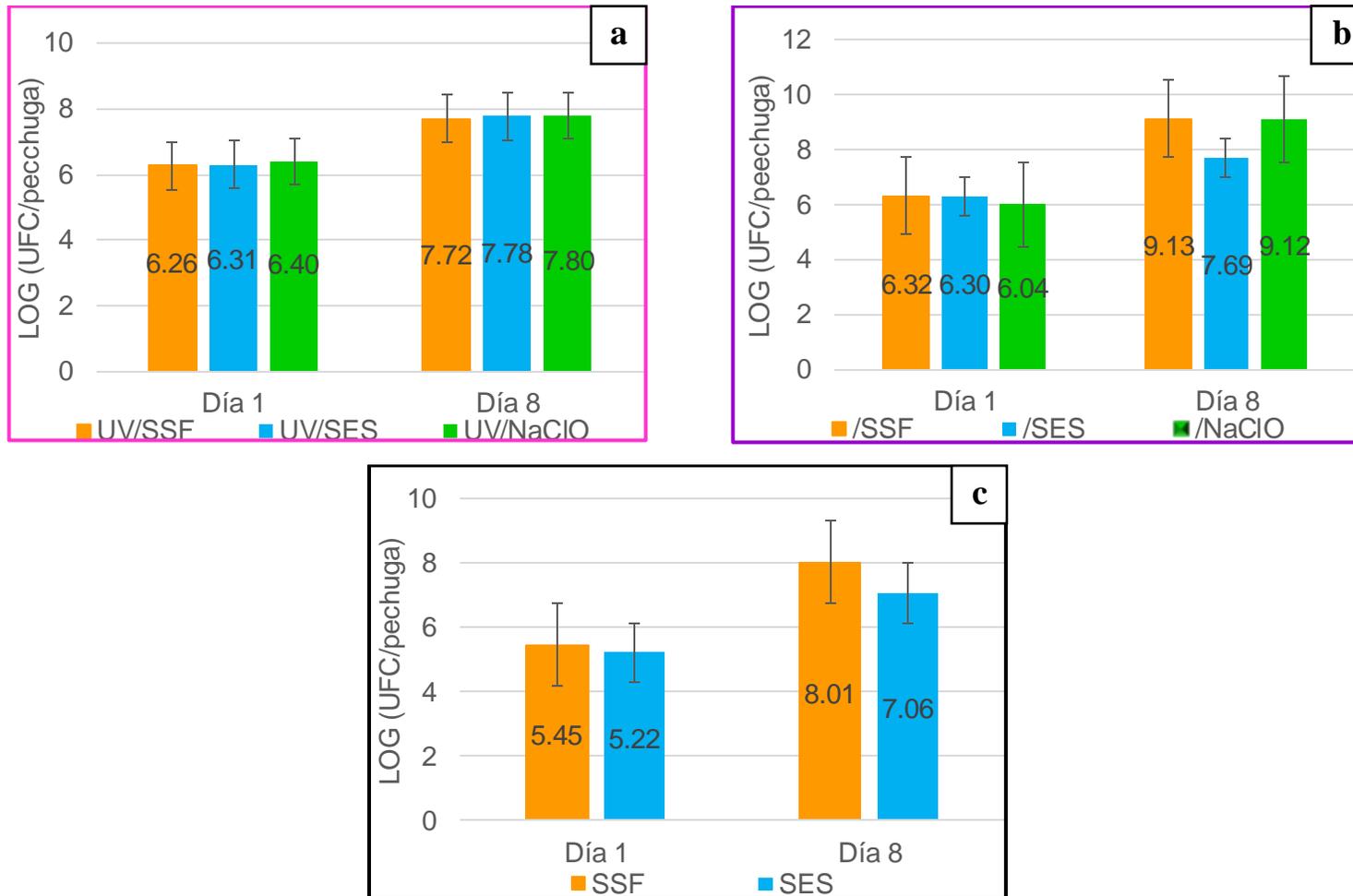


Figura 11. Efecto de los desinfectantes (SES, NaClO y SSF) sobre la carga bacteriana de la carne de pollo del experimento **UCD** (UV/Contaminación con *E. coli*/Desinfección) **(a)**, experimento **CD** (-/Contaminación con *E. coli*/Desinfección) **(b)** y experimento **C** (-/-Desinfección) **(c)**.

* $p < 0.05$

De acuerdo con los resultados del conteo bacteriano (Figura 11), no se aprecia una reducción de la carga bacteriana usando los diferentes desinfectantes, además de no apreciar un efecto bactericida otorgado por la irradiación de la luz UV.

La luz UV no nos proporciona un efecto bactericida apreciable, debido a que se sabe que es de baja penetración, por lo que únicamente actúa sobre la superficie de la carne. (Gutiérrez *et. al.*, 2012).

Esta nula participación de los desinfectantes en la reducción bacteriana se relaciona en el caso del hipoclorito de sodio con su estabilidad pues es estable a pH menor de 7.5, mientras que la carne de pollo posee un pH inicial cercano a 5.6-5.7 por lo que este podría ser un factor que contribuye a la inactivación de esta solución. (Cori, *et. al.*, 2014; Rojas, *et. al.* 2000)

Los alimentos son matrices complejas debido a sus composiciones químicas, la carne en general se compone de agua, proteínas y aminoácidos, minerales, grasas y ácidos grasos, vitaminas y otros componentes bioactivos, así como pequeñas cantidades de carbohidratos. La carne de pollo tiene la siguiente composición química que se muestra en el cuadro 5. (FAO/ONU-AGA, 2016)

Cuadro 5. Composición química de la carne de pollo (Fuente: FAO, 2007)

Producto	Contenido en 100 g de carne			
	Agua (g)	Proteínas (g)	Grasas (g)	Cenizas(g)
Carne de pollo	75.0	22.8	0.9	1.2

Estudios realizados por Bügener 2014 demuestran que la SES se inactiva en presencia de materia orgánica (proteínas y grasa principalmente); la carne de pollo posee un alto porcentaje de proteínas y ácidos grasos polinsaturados, por lo que se sospecha que el contenido de estos nutrimentos causa la pronta inactivación de la SES, por lo que no se observa un efecto sobre las bacterias, y por tanto tampoco una reducción bacteriana.

En el caso del hipoclorito de sodio autores como Balandro en 2007 señalan que esta solución es capaz de reaccionar con ácidos grasos de la membrana celular de las bacterias, pero debido a que la carne de pollo contiene un porcentaje elevado de estos es posible que el NaClO reaccione con estos ácidos grasos, perdiendo así su acción bactericida.

En ninguno de los experimentos se observa una reducción de la carga bacteriana con respecto al control y al tratamiento de NaClO. Este resultado se puede atribuir al tiempo de acción de las soluciones ya que algunos autores recomiendan tiempos variables según la concentración de cloro del desinfectante, por lo que los tiempos podrían prolongarse desde 2 a 5 minutos (Yang *et al.* 2014). Otro factor que puede estar interfiriendo con la acción antimicrobiana de la SES es el volumen utilizado para asperjar la carne, pues es probable que se requiera de una mayor cantidad a la utilizada.

Otro factor que puede estar influyendo en esta nula desinfección de la SES y el NaClO, principalmente para el día 8 de análisis microbiológico, es la capacidad de los microorganismos a presentar respuestas adaptativas como la formación de biofilms. En general el biofilm está compuesto en su mayor parte por agua (hasta un 97%), y exopolisacárido (Sutherland, 2001), pero también puede contener macromoléculas como proteínas (Branda *et al.*, 2005), las cuales pueden participar en la inactivación de la SES.

Algunos estudios han demostrado que cepas de *E. coli* O157:H7 pueden desarrollar biofilms como resultado de una mayor producción de exopolisacáridos (Ryu *et al.*, 2004). Además, se ha demostrado que la formación de biofilms proporciona una mayor resistencia bacteriana cuando se exponen a soluciones de hipoclorito, uno de los desinfectantes de mayor uso en la industria alimentaria (Wilks *et al.*, 2005; Ryu y Beuchat, 2005).

3.7 Evaluación de las características físicas de la carne de pollo

Dentro del análisis de las características físicas se encuentra la determinación del cambio total de color, esta evaluación es de suma importancia debido a que el color percibido de la carne es uno de los factores decisivos en la aceptación o el rechazo del producto.

3.7.1 Evaluación del color de la carne de pollo

La medición del color está basada en el manual de Evaluación de la Frescura publicado por SAGARPA en 2013, donde se utiliza la espectrofotometría de reflectancia, pues es uno de los métodos objetivos más utilizados debido a su estrecha correlación con la percepción visual humana (Mancini y Hunt, 2005).

El color de la carne fue medido con ayuda de un colorímetro que nos proporciona los siguientes parámetros: Luminosidad representado por la letra **L** (-L oscuro a +L luminoso), **a** que es el cambio verde a rojo (-a verde +a rojo), **b** el cual representa el cambio de color de azul a amarillo (-b azul, +b amarillo).

A continuación se muestra en la Figura 12 la evaluación del parámetro **L** (luminosidad) para el experimento **UCD** (UV/Contaminación/Desinfección) (**a**), el experimento **CD** (Contaminación/Desinfección) (**b**) y el experimento **D** (Desinfección) (**c**) respectivamente. Donde se evaluó la influencia de los desinfectantes sobre el parámetro de luminosidad, así como el efecto que puede estar otorgando la luz UV y por la contaminación con *Escherichia coli* O157:H7

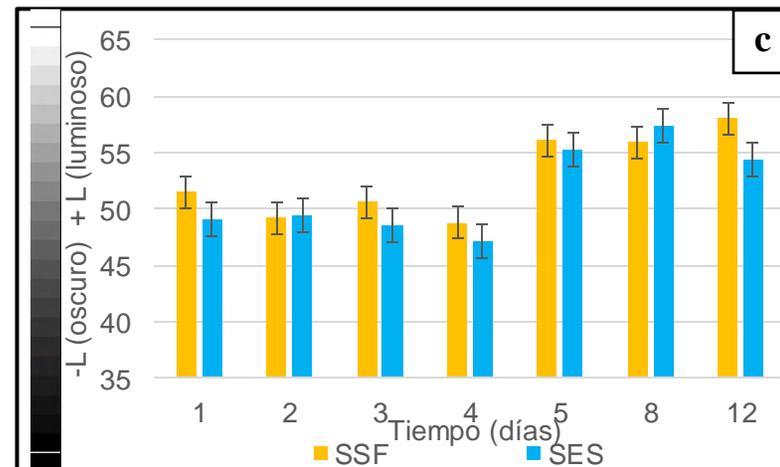
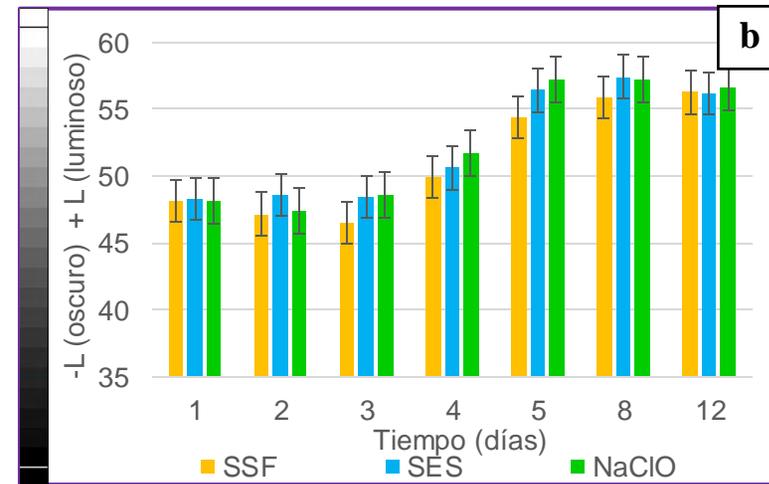
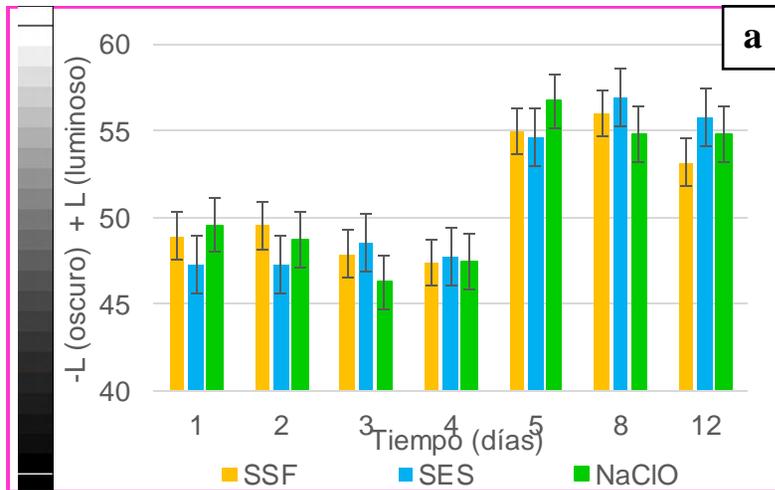


Figura 12 Efecto de los desinfectantes (SES, NaClO, SSF) sobre el parámetro de luminosidad (L) de la carne de pollo del experimento **UCD** (UV/Contaminación con *E. coli*/Desinfección) (a), experimento **CD** (-/Contaminación con *E. coli* /Desinfección) (b) y experimento **C** (-/-Desinfección) (c).

$p < 0.05$

De acuerdo con las Figuras 12a 12b y 12c, el parámetro **L** no se ve afectado debido al tratamiento de desinfección que se otorgue a la carne, la luz UV y la presencia de *E. coli* tampoco está afectando este parámetro.

Autores como Fletcher, 2001 indican que entre mayor sea el pH la carne se tornará más oscura, pues el pH muscular afecta la unión de las proteínas con el agua, lo que afecta la estructura física de la carne y a su vez las propiedades de reflectancia de la luz.; tal comportamiento no se observó durante este experimento, por el contrario, se observó un aumento en la luminosidad a valores de pH elevados, este comportamiento es atribuible a la presencia de microorganismos de descomposición, los cuales aumentan de concentración al paso del tiempo, entre dichos microorganismos se encuentra *Escherichia coli* O157:H7, este bacilo es capaz de formar biofilms (Gonzalez, 2005; Houdt y Michiels, 2005) como una estrategia adaptativa. La presencia de este biofilm, el cual se adhiere a la superficie de la carne de pollo provoca una mayor reflexión de la luz, es este efecto el que vemos reflejado en el aumento de la luminosidad al paso del tiempo para los tres experimentos.

El siguiente parámetro que fue evaluado es **b** (-b azul +b amarillo), el cual se muestra en las Figura 13 donde se comparan los experimentos UCD (UV/Contaminación/Desinfección) (a), CD (-/Contaminación/Desinfección) (b) y D (-/-/Desinfección) (c). Donde se evaluó la influencia de los desinfectantes sobre el parámetro **b** que indica el cambio de coloración de azul a amarillo en la carne de pollo.

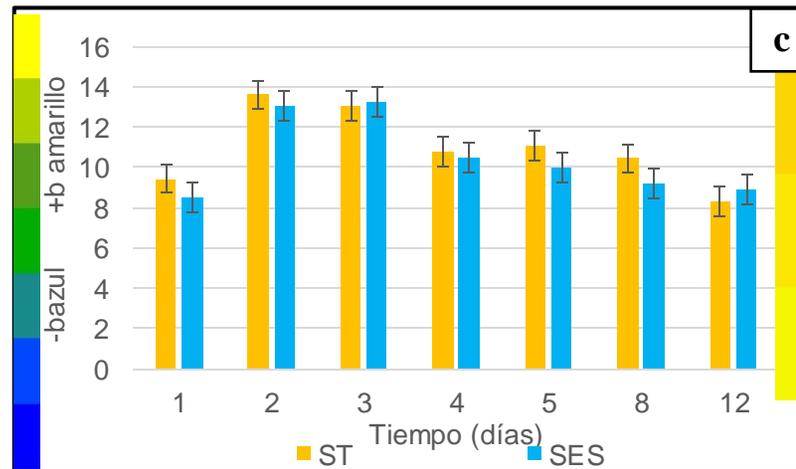
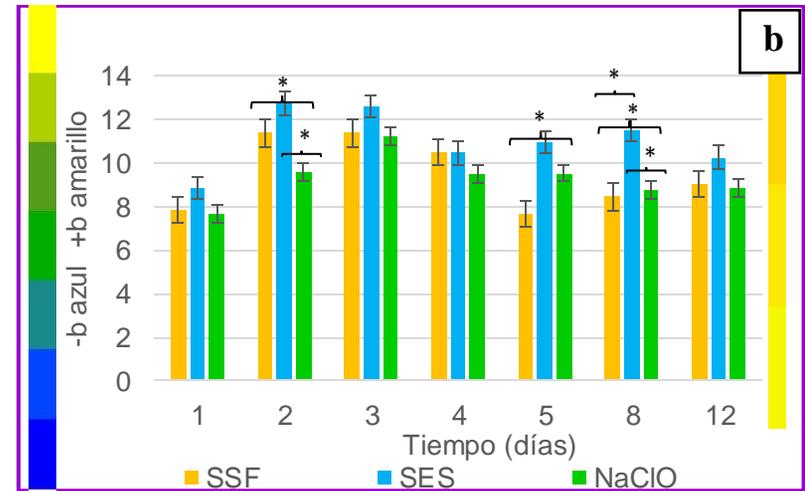
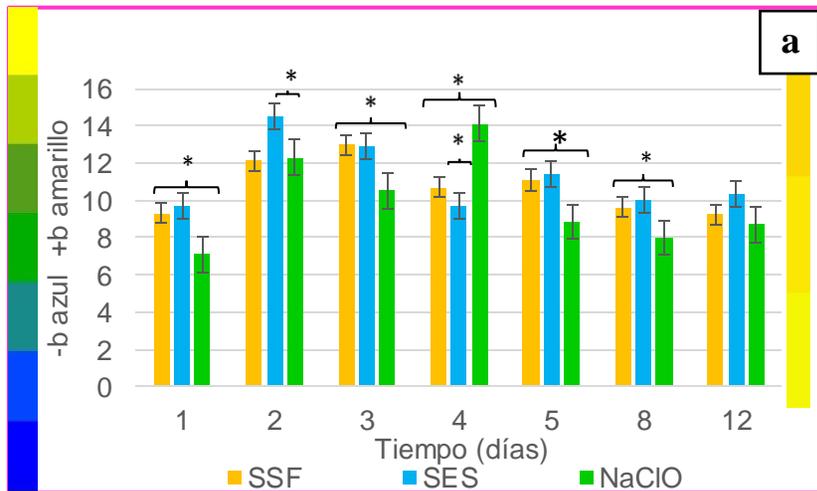


Figura 13. Evaluación del efecto de los desinfectantes (SES, NaClO, SSF) sobre el parámetro **b** (cambio de azul-amarillo) para la carne de pollo del experimento **UCD** (UV/Contaminación/Desinfección) **(a)**, experimento **CD** (-/Contaminación/Desinfección) **(b)** y experimento **D** (-/Desinfección) **(c)**. La barra del lado izquierdo nos indica el cambio de color de azul- amarillo, mientras que la barra de la izquierda muestra la variación de amarillo dentro de los valores positivos en los que se encuentran las muestras

* $p < 0.05$

El parámetro **b** se ve más afectado en la carne de pollo que fue irradiada con luz UV (Figura 13a) y asperjada con NaClO, es decir, la carne de este tratamiento al paso del tiempo se va tornando menos amarilla (tiende a valores más cercanos a cero). Este resultado se puede relacionar con el efecto de la luz UV sobre los pigmentos que le otorgan a la carne de pollo su coloración característica, estos pigmentos son introducidos en la dieta de las aves durante el periodo de crianza, compuestos como carotenos, xantofilas, luteína y zeaxantina (Martínez, 2004), son susceptibles a la oxidación, debido a la cantidad de dobles ligaduras, sus estructuras pueden verse en la Figura 14.

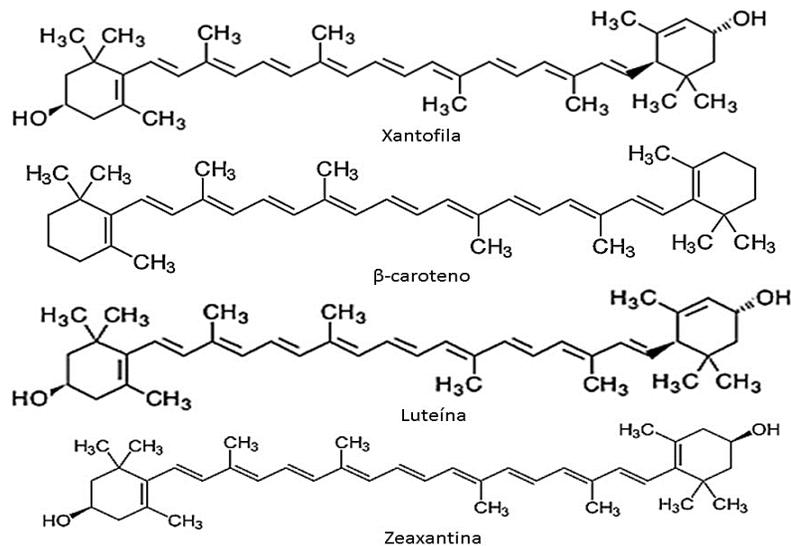


Figura 14. Estructura de los principales pigmentos responsables de la coloración amarilla de la carne de pollo (Fuente: Martínez, 2004)

La oxidación de estos pigmentos es producida por una excitación otorgada por la luz UV (particularmente en la longitud de onda entre 320-400 nm), los pigmentos ceden energía al oxígeno y forman el oxígeno singlete (1O_2). (Torres, 2002). Este tipo de factores que pueden promover la degradación de estos pigmentos, además

de que este daño produce cambios en el color del alimento, también disminuye su valor nutritivo (Melendez-Martinez, *et. al.*, 2004).

Estos efectos en el cambio de la coloración amarilla no son tan evidentes para los tratamientos de SES y SSF (Solución Salina Fisiológica), es por ello que este cambio de color se atribuye además de lo ya mencionado a la presencia del NaClO, autores como Balandro en 2007 menciona que el NaClO presenta reacciones de saponificación con los ácidos grasos, es decir, estos ácidos grasos son degradados a sales de ácidos grasos lo cual puede estar interfiriendo con el color de la carne, ya que la solución de hipoclorito de sodio se encuentra en un equilibrio químico como el que se muestra a continuación:



Siendo el NaOH (hidróxido de sodio) el responsable de efectuar estas reacciones de saponificación, como se muestra en la figura 15.

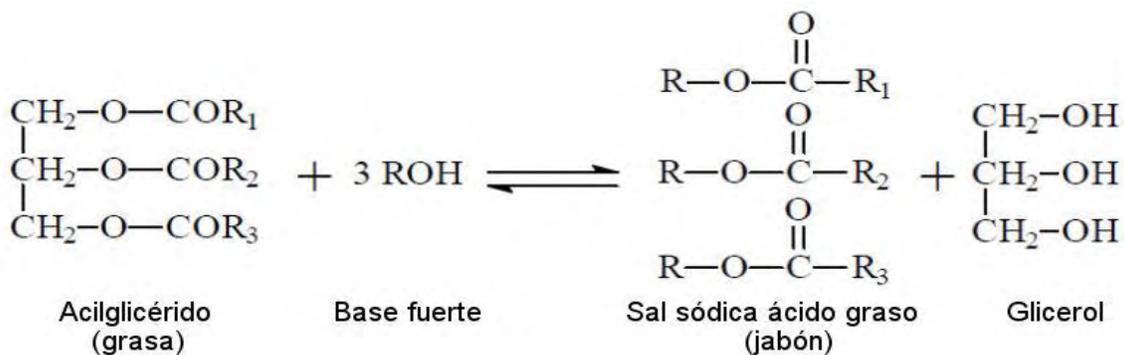


Figura 15. Reacción de saponificación entre una base y un ácido graso

En la comparación de las figuras 13b y 13c se pone de manifiesto la nula participación de *Escherichia coli* O157:H7 sobre el cambio en la coloración de la carne de pollo, aunque nuevamente se aprecia un mayor cambio en la coloración

de la carne de pollo que es asperjada con NaClO (figura 13b), lo cual se relaciona con una afectación sobre los ácidos grasos contenidos en la carne.

Comparando las Figuras 13b y 13c se observa que en ambos casos la SES no presenta una diferencia en el cambio del parámetro **b** en comparación con ST.

En el experimento C (Figura 13c) se aprecia una disminución en la coloración amarilla de la carne de pollo, por lo que este cambio de color podemos atribuirlo a reacciones metabólicas de las bacterias ambientales que están contenidas en la carne.

Las figuras 16a, 16b y 16c muestran la comparación de los experimentos UCD (UV/Contaminación/Desinfección), CD (-/Contaminación/Desinfección) y C (-/-/Desinfección). Donde se evaluó la influencia de los desinfectantes sobre el parámetro **a** que indica el cambio de coloración de rojo a verde.

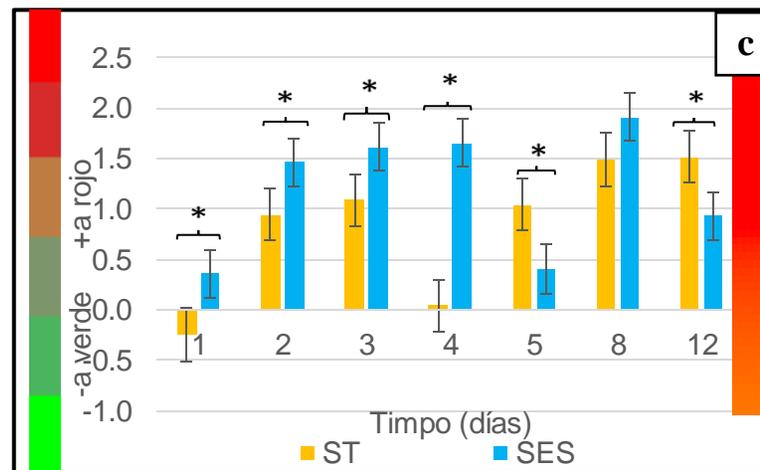
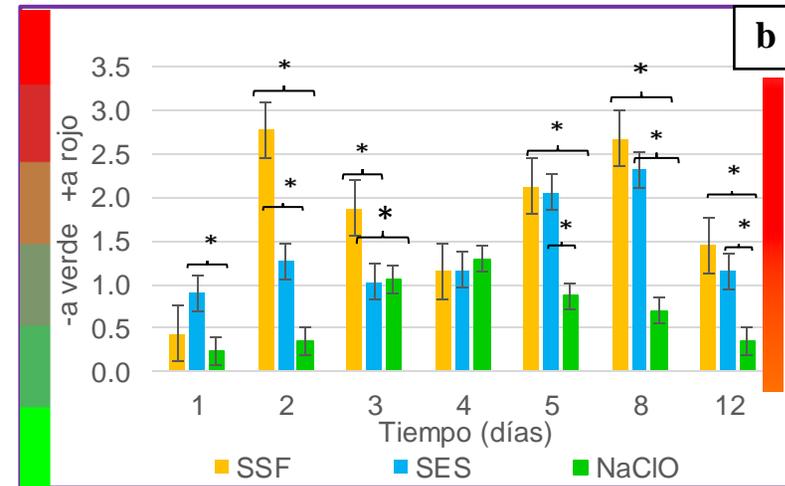
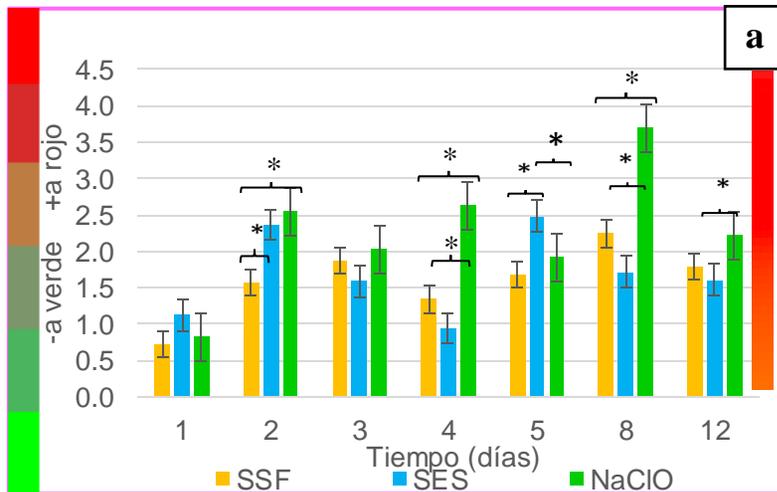


Figura 16. Evaluación del efecto de los desinfectantes (SES, NaClO, SSF) sobre el parámetro **a** (cambio de verde a rojo) para la carne de pollo del experimento UCD (UV/Contaminación/Desinfección) (a), experimento CD (-/Contaminación/Desinfección) (b) y experimento D (-/-Desinfección) (c). La barra del lado izquierdo nos indica el cambio de color de verde a rojo, mientras que la barra de la izquierda muestra la variación de rojo dentro de los valores positivos.

* $p < 0.05$

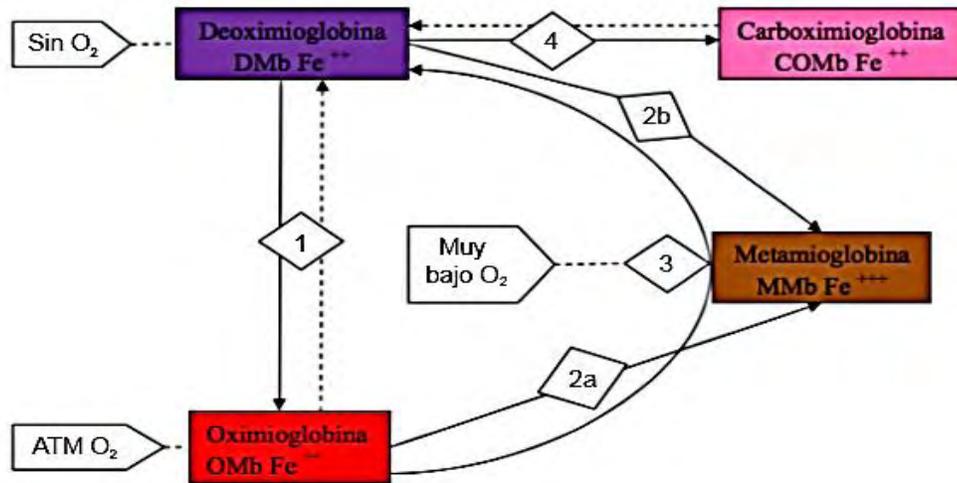
El parámetro que resulta más modificado para el experimento UCD y CD (Figuras 16a y 16b) es **a** (que indica cambio de rojo-verde), nuevamente se observa que el proceso de desinfección con hipoclorito de sodio (NaClO), altera un parámetro de color.

Para el caso de la carne de pollo irradiada con luz UV (Figura 16a), se observa que el tratamiento con NaClO tiene un efecto sobre el color de carne la cual adopta una coloración más roja al paso del tiempo. En el tratamiento de SES observamos un comportamiento de disminución y luego aumento en la coloración roja, el cual es un comportamiento más similar al del control SSF (Solución Salina Fisiológica).

Para el caso de la carne de pollo no irradiada con luz UV (Figura 16b), el tratamiento de NaClO muestra un comportamiento en el cual la carne tiene a ser menos roja; este comportamiento no se aprecia con el tratamiento de la SES y SSF.

La carne de pollo sufre afectaciones del color por reacciones de la mioglobina con oxígeno, influenciadas por el pH (Fletcher, 2001) para los tratamientos de SES y SSF podemos ver de acuerdo con las Figuras 16a y 16b que la carne de pollo adquiere una coloración roja, esto puede deberse a reacciones de oxidación de la mioglobina contenida en el músculo de pollo, aunque el cambio no es muy apreciable debido a que la carne de pollo tiene concentraciones bajas de mioglobina, se sabe que la carne blanca de ave de 8 semanas de edad tiene en promedio 0.01 mg de mioglobina por g de carne (Fletcher, 2001).

El hipoclorito de sodio (NaClO) puede estar participando en la oxidación de la mioglobina (Mb) produciendo metamioglobina (ver Figura 17) la cual posee una coloración marrón, lo cual concuerda con el comportamiento de la Figura 16b.



- Rx 1 (oxigenación) $\text{Dmb} + \text{O}_2 \leftrightarrow \text{Omb}$
 Rx 2a (oxidación) $\text{Omb} + [\text{consumo o baja presión parcial de O}_2] - e \rightarrow \text{Mb}$
 Rx 2b (oxidación) $[\text{DMb} - \text{ion hidroxil-ion H complejo}] + \text{O}_2 \rightarrow \text{MMb} + \text{O}_2$
 Rx 3 (reducción) $\text{MMb} + \text{consumo de O}_2 + \text{reducción de MMb} \rightarrow \text{Dmb}$
 Rx 4 (carboxiMb) $\text{DMb} + \text{monóxido de C} \rightarrow \text{COMb}$

Figura 17. Esquema de oxidación y reducción de la mioglobina (Fuente: SAGARPA, 2013)

En la Figura 16c se observa un comportamiento donde la carne va adquiriendo una coloración más roja, recordando que esta carne no posee contaminación adicional de *Escherichia coli* O157:H7 por lo que este aumento en la coloración roja puede estar otorgado por el oxígeno y por posible presencia de enzimas oxidantes de las bacterias ambientales.

Las muestras correspondientes a la Figura 16b; donde se observa un comportamiento menos uniforme y algunos aumentos hay unos aumentos abruptos para ciertos días de análisis, el aumento de la coloración roja la podemos relacionar con la Figura 16c, donde se muestra que la presencia de oxígeno promueve la formación de oximioglobina (OMb) que es de color rojo; mientras que para los días que el valor en el parámetro \underline{a} no es tan elevado, podemos sospechar de la oxidación de la Omb, por lo cual se intuye que la presencia de *Escherichia coli*

O157:H7 puede contener enzimas pro-oxidantes que favorezcan este cambio en la coloración de la carne de pollo.

Los resultados de la Figura 16 en conjunto con los siguientes resultados de pH, de acuerdo con Sanz, 2002 menciona que el pH afecta el color ya que las moléculas que dan color funcionan con electrones en resonancia, el cambio de pH puede alterar esta resonancia.

Para que sean más apreciables los efectos de los parámetros **L**, **a** y **b** en el color de la carne de pollo, es necesario calcular el cambio total de color expresado como ΔE , donde se indica la magnitud de la diferencia total de color, esta diferencia se obtiene al comparar dos muestras, donde son involucradas las variaciones de cada parámetro otorgado por el colorímetro, es decir **L**, **a** y **b**. en esta investigación estas mediciones se hicieron respecto al control de SSF, esto significa, que el ΔE entre la carne tratada con SES o NaClO es comparada con SSF. Esta magnitud se mide mediante el siguiente logaritmo de cálculo:

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2} \dots \dots \dots \text{ecuación 1}$$

Donde:

$$\Delta L = |L \text{ control} - L \text{ muestra}|$$

$$\Delta a = |a \text{ control} - a \text{ muestra}|$$

$$\Delta b = |b \text{ control} - b \text{ muestra}|$$

La Figura 18 muestra el cambio total de color calculado entre las muestras tratadas con SSF y los desinfectantes para los experimentos UCD (UV/Contaminación/Desinfección) (a), CD (-/Contaminación/Desinfección) (b) y D (-/-Desinfección) (c).

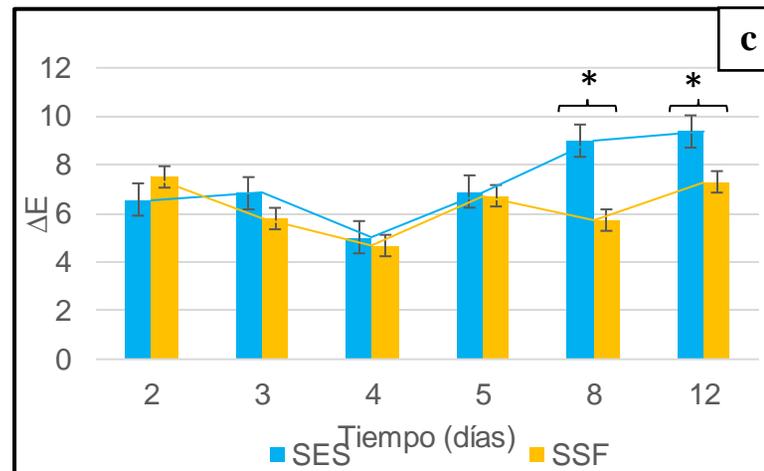
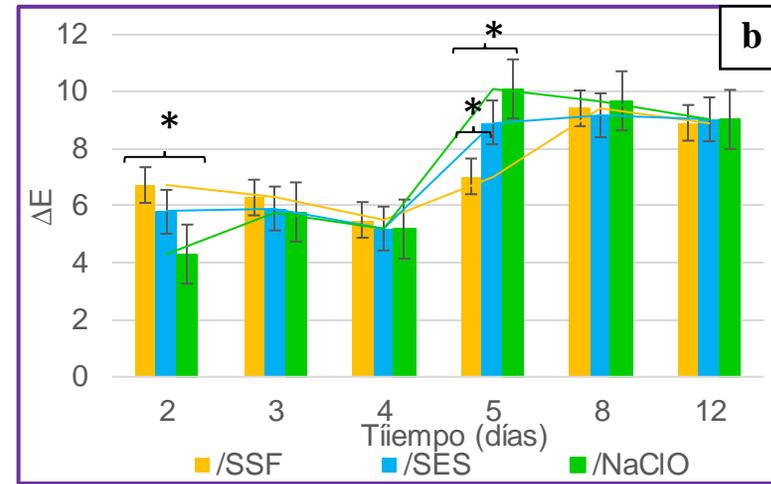
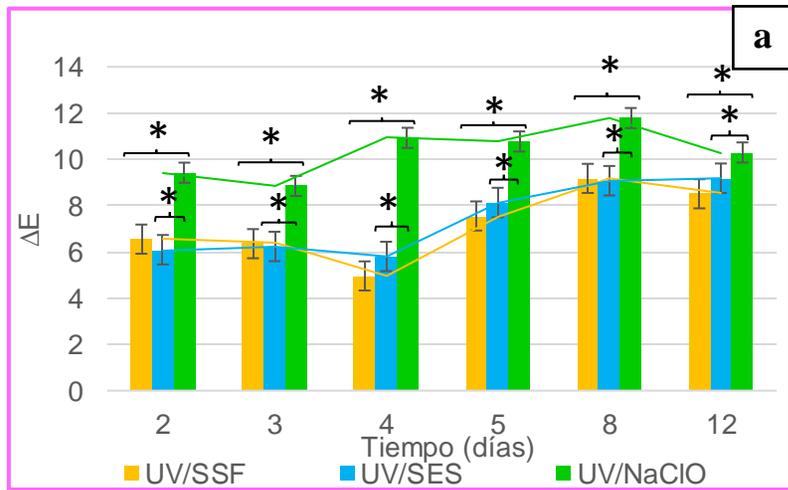


Figura 18. Evaluación del efecto de los desinfectantes sobre el cambio total de color (ΔE) en la carne de pollo del experimento UCD (UV/Contaminación/Desinfección) (a), experimento CD (-/Contaminación/Desinfección) (b) y experimento D (-/-/Desinfección) (c).
 $p < 0.05$

El cambio total de color más apreciable se muestra en la figura 18a, donde la carne de pollo fue irradiada con luz UV (experimento UCD), siendo el tratamiento de hipoclorito de sodio (NaClO) el que afecta más el color de la carne de pollo. Este cambio total de color que vemos influenciado por la luz UV, puede ser debido a que esta tiene la capacidad de afectar pigmentos de la carne de pollo como carotenos, xantofilas, luteínas, etc. Por otra parte también puede estar afectando la Mioglobina (Mb) contenida en la carne de pollo, además de que el NaClO puede estar degradando ácidos grasos y promover la oxidación de la Mb, como ya se mencionó anteriormente.

La luz UV puede afectar el color de la carne de pollo al promover la formación de especies reactivas de oxígeno (EROs), lo cual concuerda con los datos mostrados en la figura 18b, donde la carne no paso por este proceso de irradiación.

Comparando las figuras 18b y 18c se aprecia una menor diferencia entre el tratamiento de SSF y los desinfectantes evaluados (SES y NaClO). Las muestras tratadas con NaClO muestran un mayor ΔE , lo cual nos indica que el hipoclorito de sodio produce una mayor alteración del color de la carne.

Aunque es sabido que la coloración de la carne de las aves es variable debido a distintos factores como: su potencial genético (de captar pigmentación o depósito de pigmentos en la piel del ave), de los pigmentos alimentarios, la salud del ave y del método de procesamiento; estos factores fueron controlados durante el experimento al trabajar con pollos de engorda de la misma edad (7 semanas), sexo (hembras), lote y alimentación. Por lo que este cambio de color es atribuible al uso del desinfectante y a tratamientos durante la experimentación.

Este resultado es determinante ya que uno de los atributos más importantes de la calidad de un alimento es su aspecto, y el factor que más contribuye en el aspecto es el color, en las aves la apariencia carne cruda es fundamental para la aceptación por el consumidor. Si los colores de la carne cruda son diferentes al tomo esperado (tostado pálido a rosa) esto puede provocar el rechazo del producto (Fletcher, 2001).

3.8 Evaluación de las características químicas de carne de pollo

3.8.1 Determinación del pH de la carne de pollo

Dentro de la determinación de calidad de la carne de acuerdo con el manual de calidad de la carne de SAGARPA 2013 las determinaciones fisicoquímicas de mayor importancia son las de pH, pues este parámetro nos puede dar indicios de la calidad que posee la carne al analizarla.

La medición de pH nos puede indicar el nivel de descomposición de la carne de pollo, ya que después de la etapa del rigor-mortis y durante el almacenamiento y transporte, el pH del músculo aumenta gradualmente, debido principalmente al desarrollo microbiano (SAGARPA 2013).

El pH fue evaluado en la carne de pollo almacenada en refrigeración a 4 °C, para los experimentos UCD (UV/Contaminación/Desinfección), CD (-/Contaminación/Desinfección) y D (-/-/Desinfección) dichas determinaciones se muestran en las figuras 19a, 19b y 19c respectivamente.

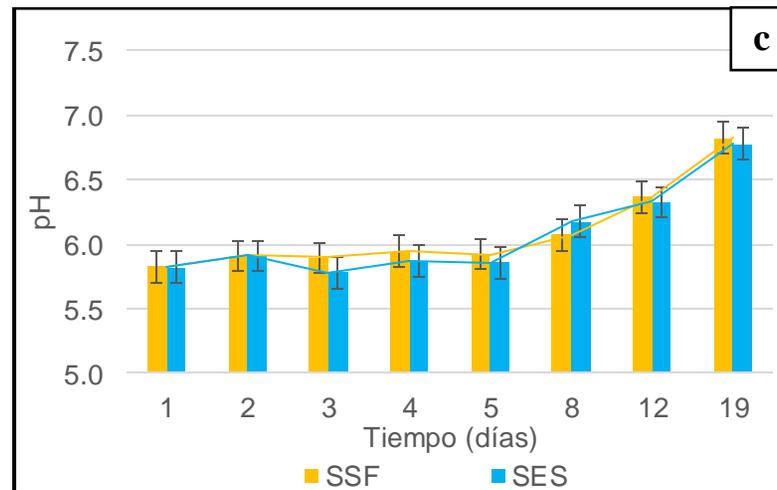
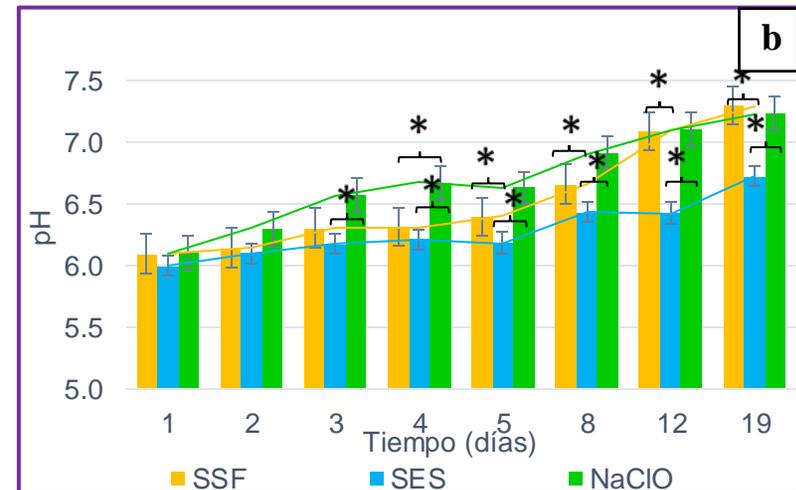
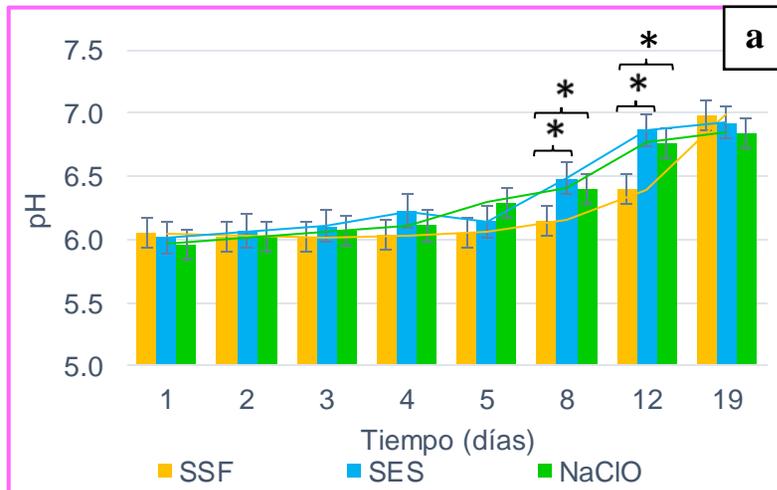


Figura 19. Evaluación del efecto de los desinfectantes sobre el pH de la carne de pollo del experimento UCD (UV/Contaminación/Desinfección) (a), experimento CD (-/Contaminación/Desinfección) (b) y experimento D (-/-Desinfección) (c).

**p < 0.05*

Para el experimento UCD (Figura 19a) no se observa menor variación significativa con respecto al control para los dos desinfectantes analizados. Mientras que para el experimento CD (Figura 19b) se aprecia una diferencia significativa en el valor de pH (a partir del cuarto día de monitoreo) al paso del tiempo entre las muestras analizadas con SES con respecto al control y a la solución de NaClO. Este resultado nos indica que la SES ayuda a mantener los valores de pH menos elevados, esto puede atribuirse a que la carne tratada con SES se descompone a menor velocidad.

Los resultados obtenidos en la Figura 19a de la carne irradiada con luz UV, muestran valores de pH muy similares entre sí sin importar el tratamiento de desinfección que se le otorgue a la carne, es decir, ninguno de los desinfectantes está teniendo un efecto sobre las enzimas bacterianas productoras de aminas biogénicas, las cuales están teniendo una actividad normal y por tanto una producción de compuestos aminados que contribuyen a alcalinizar el medio.

Se sabe que la luz UV promueve la formación de Especies Reactivas de Oxígeno (EROs), las cuales oxidan lípidos, proteínas y pigmentos principalmente (Badui, 2013), pero también es posible que se oxiden proteínas, esta reacción se basa principalmente en la oxidación de aminoácidos como: tirosina, metionina, triptófano, lisina, cisteína, entre otras. Entre los principales cambios que pueden sufrir las proteínas son: la carbonilación, la formación de enlaces proteína-proteína, ruptura de enlaces peptídicos y formación de puentes disulfuro (Díaz y Membrillo, 2006)

Las oxidaciones proteicas pueden producir cambios conformacionales, activación o desactivación de enzimas, en el caso de la formación de puentes disulfuro entre grupos tioles de cisteínas cercanas dentro de la conformación tridimensional. (Díaz y Membrillo, 2006). Sí en la carne del experimento UCD, está ocurriendo esta oxidación proteica es probable que la SES este interactuando con grupos sulfhidrilo de las proteínas que fueron expuestos debido al cambio conformacional de las mismas, otra razón por la cual se puede tener una inactivación del desinfectante, pues como sabemos la SES se inactiva en presencia de materia orgánica, por lo que tengo una mayor cantidad de proteínas o péptidos disponibles en el medio, para

ser oxidados por la SES y por el NaClO, por lo que ya no están interfiriendo con enzimas amino descarboxilasas de las bacterias, y se está permitiendo esta libre formación de aminas biogénicas las cuales poseen un pH alcalino.

Debido a que la luz UV promueve la oxidación de lípidos, los ácidos grasos ya no están participando en el pH de la carne, por otra parte, los ácidos orgánicos contenidos en la carne por cambios fisicoquímicos post-mortem como el ácido láctico, si contribuyen en la acidificación de la carne.

En la figura 19b observamos el efecto de *Escherichia coli* O157:H7 en el pH, para el tratamiento SSF y NaClO observamos un aumento del pH, mientras que en el tratamiento de SES se observa un mantenimiento del pH al paso de los días (a partir del tercer día de análisis), por lo que el aumento de este no es tan grande. En la figura 19c se presenta un comportamiento similar entre SSF y SES.

Al paso de los días del almacenamiento de la carne de pollo en refrigeración a 4°C, los valores de pH tienden a aumentar lo cual se atribuye a la liberación de aminas y de grupos carbonilo (procedentes de reacciones proteolíticas) y posteriormente a la descarboxilación de aminoácidos por parte de ciertos géneros de bacterias deteriorantes entre ellos *Escherichia coli* O157:H7, así es como se forman compuestos básicos (FAO, 1994).

En la figura 19b se muestra que el tratamiento con SES mantiene el pH entre 6-6.8 al paso del tiempo, este efecto se atribuye a que la SES actúa sobre los grupos sulfhidrido de las proteínas, por lo que puede estar oxidando las enzimas de *E. coli* O157:H7 responsables de la descarboxilación de aminoácidos. Efecto que no se presenta en SSF y NaClO.

En la figura 19c se aprecia el pH de la carne que no está contaminada con *E. coli*, por lo que la producción de aminas biogénicas puede ser atribuible al metabolismo de diversas bacterias ambientales.

En general, para los tres experimentos, observamos que al inicio los valores de pH son ligeramente ácidos, este comportamiento se debe (de manera natural) a cambios *post mortem* después de la matanza del ave; pues el pH del músculo en

vida es de 7.2. Después de la muerte, el músculo se acidifica hasta valores de 6 o menores, debido a la acumulación de ácido láctico (Lyon, 2000). El ácido láctico procede de la degradación *post-mortem* del glucógeno por medio de la glucólisis, es un proceso que libera energía en forma de adenosintrifosfato (ATP). El ATP sirve para mantener la extensibilidad del músculo. Cuando se gasta, el músculo entra fase de rigor mortis y se vuelve inextensible. (Warriss, 2001).

El pH muscular se ha asociado con otras características de la carne, incluyendo la terneza, la CRA, la estabilidad microbiana. Por lo que el pH afecta significativamente el tiempo de conservación del punto de venta. (Fletcher, 2001)

3.8.2 Determinación del porcentaje de ácido láctico de la carne de pollo

La determinación del porcentaje de ácido láctico se realiza para complementar los resultados de pH, pues en la carne se tienen dos tipos de acidez, la natural, que es desarrollada por la composición del alimento, en este caso por los cambios bioquímicos del músculo *post mortem*, y la acidez desarrollada la cual se debe a una acidificación que puede ocurrir por procesos térmicos, enzimáticos o microbiológicos.

Debido a lo mencionado anteriormente es que se optó por conocer el porcentaje de ácido láctico contenido en la carne de pollo el cual fue evaluado para los experimentos UCD (UV/Contaminación/Desinfección), CD (-/Contaminación/Desinfección) y D (-/-/Desinfección) que se muestran en las figuras 20a, 20b y 20c respectivamente.

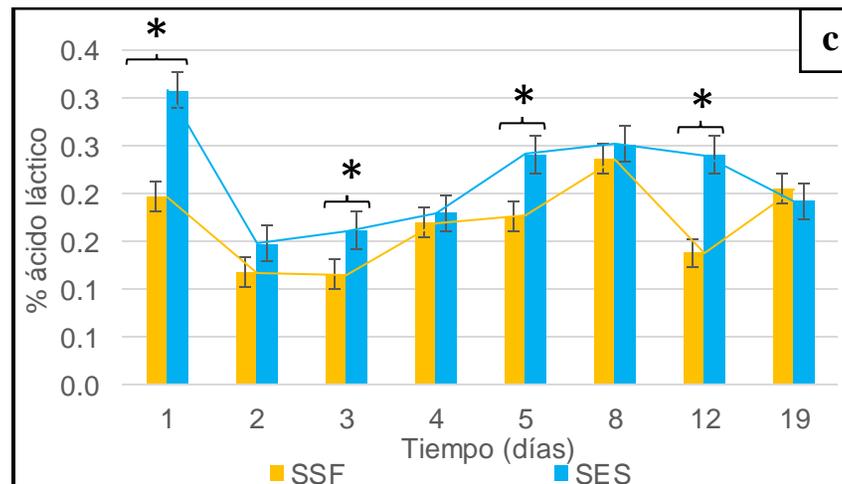
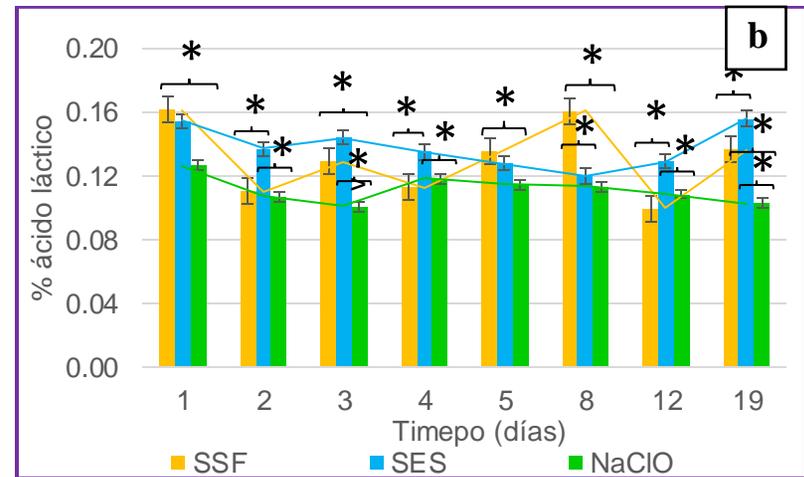
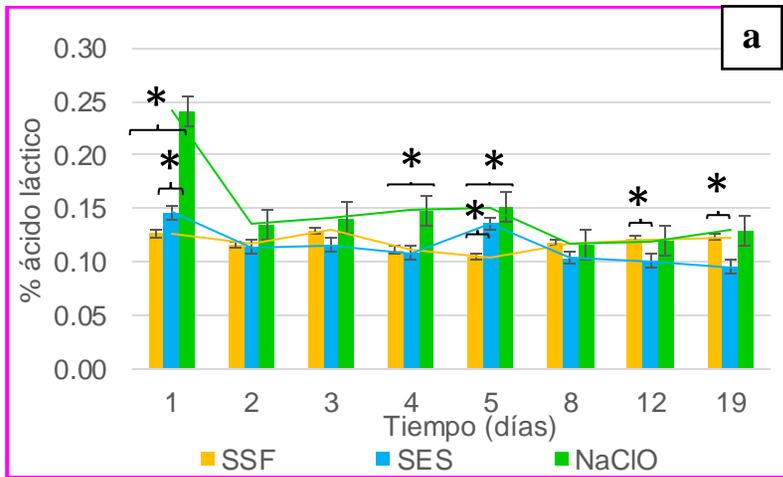


Figura 20. Evaluación del efecto de los desinfectantes sobre el porcentaje de ácido láctico en la carne de pollo del experimento UCD (UV/Contaminación/Desinfección) (a), experimento CD (-/Contaminación/Desinfección) (b) y experimento D (-/-/Desinfección) (c).
 $p < 0.05$

En la carne de pollo que fue irradiada con luz UV (Figura 20a) no se aprecia un aumento pronunciado de ácido láctico a diferencia del tratamiento de la carne que no fue irradiada con luz UV (Figura 20b). Los valores iniciales de acidez se atribuyen a cambios *posmortem* naturales, del metabolismo anaerobio.

En la Figura 20b donde las muestras de carne no están irradiadas y además contienen *Escherichia coli* O157:H7, que puede estar presentando reacciones de transaminación de aminoácidos para formar piruvato, que a su vez se transforma en ácido láctico.

Esta transaminación no está ocurriendo en la carne irradiada con luz UV, debido a que las proteínas sufren oxidación, y son particularmente los aminoácidos, los que son susceptibles a oxidarse. Por lo que no observamos esta variación del porcentaje de ácido láctico a diferencia de las muestras no irradiadas (donde las proteínas no están oxidadas).

Para el experimento CD (figura 20b) se observa un comportamiento donde el ácido láctico aumenta para después disminuir y finalmente volver a aumentar, este comportamiento es más evidente para la carne que recibió el tratamiento SSF (Solución Salina Fisiológica). El tratamiento de NaClO muestra una menor variación del porcentaje de ácido láctico.

El tratamiento de SES es el que muestra un comportamiento de disminución y luego aumento. Lo cual se complementa con el pH, el tener valores de ácido láctico menores, significa que el pH de la carne es más elevado, por lo que se sospecha que puede haber un daño en las proteínas, por lo que esta carne será de textura suave y exudativa (o jugosa), debido a que se afectan las propiedades de retención de agua de la carne. (Castrillón, 2005) ya que la carne de pollo es comúnmente consumida sin recibir algún procesamiento a diferencia de algún producto cárnico, la textura suave y la jugosidad son atributos aceptables en la carne de pollo.

Se aprecian diferencia entre los experimentos CD (Contaminación/Desinfección) y D (Desinfección), pues de manera general la producción de ácido láctico durante el tiempo de almacenamiento es mayor para los tratamientos que no fueron

contaminados con *Escherichia coli* O157:H7 (Figura 20b), lo cual nos indica que los microorganismos que habitan de manera natural la carne de ave, son bacterias con capacidad de producir ácido láctico.

Para la Figura 20c, se observa que la producción de ácido láctico va en aumento, en estas muestras la carne no está contaminada, pero es importante recordar que en esta carne hay bacterias ambientales, una de la ruta que pueden seguir las bacterias para explicar este aumento en el porcentaje de ácido láctico, son reacciones de transaminación de alanina, para producir piruvato, y que posteriormente este sea transformado en ácido láctico.

La formación de ácido láctico se presenta debido a los cambios *post mortem* de la carne, donde el glucógeno almacenado en el músculo es degradado por medio de una glucólisis anaerobia (una reacción en la que el músculo trata de producir energía en ausencia de oxígeno). A medida que el ácido láctico se forma, el pH de la carne desciende. En la carne de pollo este proceso ocurre en un lapso de 2-4 h. la glucólisis anaerobia sigue ocurriendo hasta que se alcanza un pH de 5.7 por debajo de este valor la glucólisis es inhibida, o por otra parte la glucólisis cesa cuando las reservas de glucógeno son agotadas. (Lyon, 2000; SAGARPA, 2011)

3.8.3 Determinación del contenido de bases nitrogenadas volátiles totales de carne de pollo

El proceso de formación de aminas biogénicas es consecuencia de la degradación de los aminoácidos que constituyen la proteína del músculo, originándose la hidrólisis de éstas por acción de endoenzimas y por acción enzimática de amino descarboxilasas de origen bacteriano que transforman los aminoácidos en aminas (FAO, 1994). La carne de pollo ofrece un ambiente altamente nutritivo para la proliferación bacteriana, pues el músculo satisface las necesidades básicas de crecimiento. (SAGARPA, 2013).

Es por lo antes mencionado que en la carne de pollo se desea conocer el grado de deterioro producido por el metabolismo bacteriano es por ello que se cuantificó en contenido de BNVT en la carne de pollo para los tres experimentos.

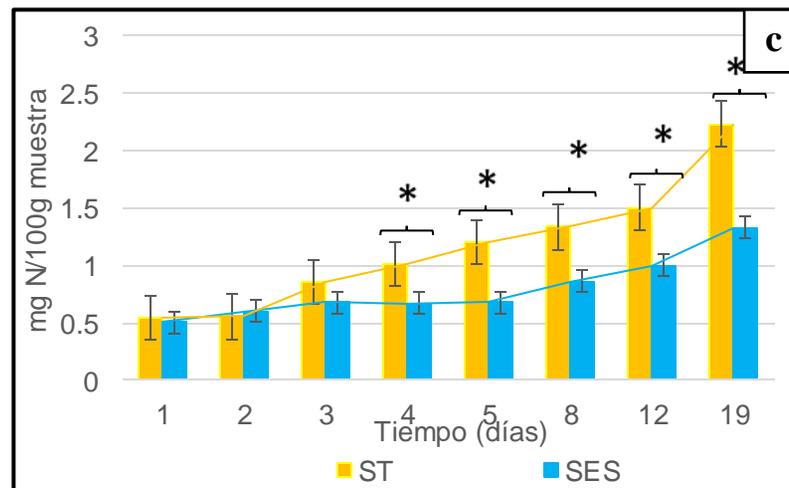
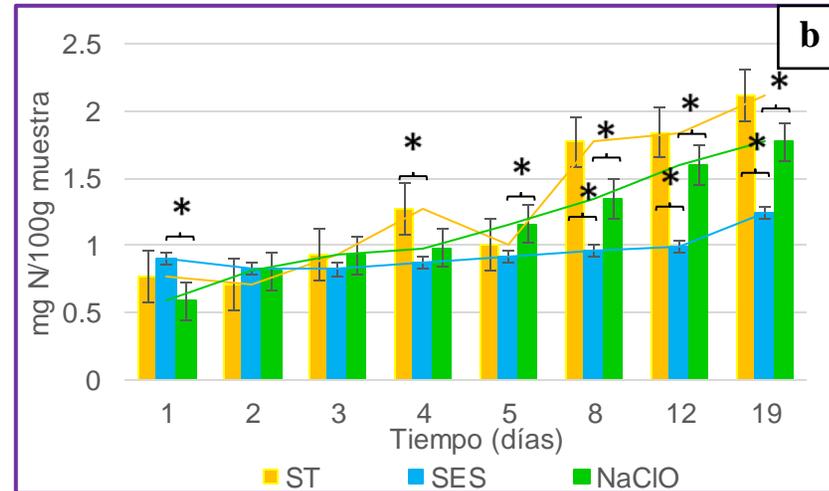
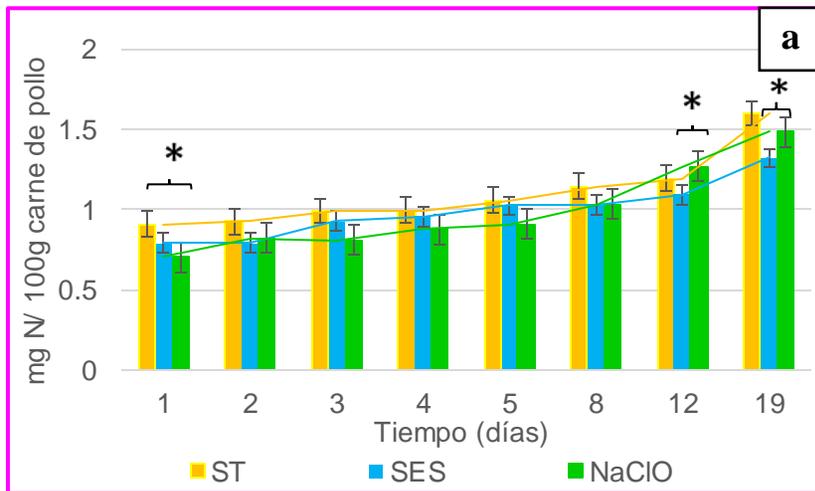


Figura 21. Evaluación del efecto de los desinfectantes sobre la formación de bases nitrogenadas volátiles totales (BNVT) en la carne de pollo del experimento UCD (**UV/Contaminación/Desinfección**) (a), experimento CD (**-/Contaminación/Desinfección**) (b) y experimento D (**-/-Desinfección**) (c).

* $p < 0.05$

La figura 21a muestra una carne de pollo que fue irradiada con luz UV, en general tenemos un aumento en la formación de bases nitrogenadas volátiles totales (BNVT), el comportamiento para los diferentes tratamientos no es tan diferente salvo en los últimos dos días de análisis, en este experimento debemos tener en cuenta que muy probablemente los desinfectantes SES y NaClO ya se encuentran inactivados debido a que reaccionaron con proteínas y lípidos de la carne de pollo (promovidos por la luz UV).

Mientras que en la figura 21b tenemos una carne que no fue sometida a irradiación, por lo que los desinfectantes no están inactivados. Como podemos observar para el caso de SSF y NaClO tenemos una producción de BNVT significativamente mayor al tratamiento con SES aproximadamente desde el quinto día de análisis. Este comportamiento se atribuye a que la SES puede estar oxidando proteínas con función enzimática (aminodescarboxilasas) de *Escherichia coli* O157:H7 causantes de la formación de estas BNVT. Mientras que el NaClO puede estar enfocándose en reacciones de degradación de ácidos grasos en lugar de afectar a las proteínas enzimáticas de este patógeno.

Estos resultados concuerdan con los resultados antes mostrados de pH, donde es apreciable un aumento del pH al paso del tiempo, lo cual atribuimos a la producción de BNVT, las cuales guardan una buena correlación con el pH, es decir, entre mayor sea la cantidad de BNVT formadas mayor será el pH.

Para el experimento CD (figura 21b), la formación de las aminas biogénicas es producto del metabolismo de *Escherichia coli* O 157:H7 y bacterias ambientales, en conjunto. Mientras que para el experimento D (figura 21c), la producción de aminas biogénicas se atribuye al metabolismo de bacterias ambientales.

Algunas de las aminas biogénicas de interés en los alimentos son la agmatina, cadaverina, putrecina y tiramina. En el Cuadro 6 se muestran algunos productos principales de la descarboxilación de aminoácidos

Cuadro 6. Aminas biogénicas y aminoácidos precursores (Fuente: FAO, 1994)

Aminoácidos	Aminas biogénicas
Arginina	Agmatina
Histidina	Histamina
Lisina	Cadaverina
Ornitina	Putrecina
Tirosina	Tiramina

Las reacciones que muestran los procesos de descarboxilación involucrados en la formación de cada una de las aminas biogénicas se ejemplifican en la Figura B2 del Anexo B.

Debido al metabolismo de *Escherichia coli* O157:H7 las aminas biogénicas que se espera encontrar corresponden a cadaverina, putrecina y agmatina, de estas no se conoce información sobre toxicidad en el cuerpo humano, pero si pueden potenciar la acción toxica de la histamina; además de ser indicadores del inicio de la descomposición, por lo cual su aparición es un indicador de la descomposición de los alimentos.

Para los tres experimentos se observa un comportamiento de aumento en la formación de aminas biogénicas al paso del tiempo, pero al mismo tiempo es evidente que la carne de pollo que fue tratada con la SES (barras azules) presenta valores menores de BNVT, por lo que se intuye que hay una menor descomposición en comparación a los tratamientos de SSF y NaClO.

Estos resultados muestran que la SES tiene un efecto de conservación en la carne de pollo, esto puede atribuirse al poder de óxido reducción de la SES, pues esta solución podría estar oxidando grupos sulfhidrilo de las enzimas aminodescarboxilasas que poseen las bacterias de descomposición entre ellas *Escherichia coli* O157:H7.

También es probable que se esté cuantificando una cantidad menor de bases volátiles debido a que las aminas biogénicas pueden reaccionar con aldehídos formados por la oxidación lipídica como es el caso del MDA (Navarro, 2004).

La determinación de aminas biogénicas es importante no solo desde el punto de vista toxicológico, sino también porque estos compuestos pueden utilizarse como indicadores del grado de deterioro de los alimentos. En carne fresca, los recuentos elevados de putrecina, cadaverina y tiramina han sido relacionados con concentraciones elevadas de *Pseudomonas* spp., *Enterobacteriaceae* y bacterias lácticas, respectivamente (De Mey, *et. al*, 2012).

3.8.4 Determinación de Sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbiturico de carne de pollo

La oxidación de los compuestos lipídicos de un alimento, es una de las reacciones que afectan la calidad de la carne, ya que este fenómeno ocurre por reacciones químicas en muchos de los casos de forma espontánea, o por metabolismo microbiano. (SAGARPA, 2013)

Una manera de determinar la oxidación lipídica es por medio de la cuantificación de compuestos formados por dicha oxidación (óxidos, aldehídos y cetonas), esta prueba es conocida como índice de TBARS o sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico. En las Figuras 22b y 22c muestran los resultados de esta prueba, donde se cuantificó el contenido de malondialdehído (MDA) como producto de la oxidación, realizados en carne de pollo almacenada en refrigeración durante 19 días, para los experimentos CD (contaminación/Desinfección) y D (Desinfección) respectivamente.

Esta prueba no se realizó en el experimento UCD debido a que las muestras fueron sometidas a una exposición de luz UV y se sabe que la luz UV promueve la oxidación lipídica (Navarro, 2004), lo cual podría dar resultados erróneos.

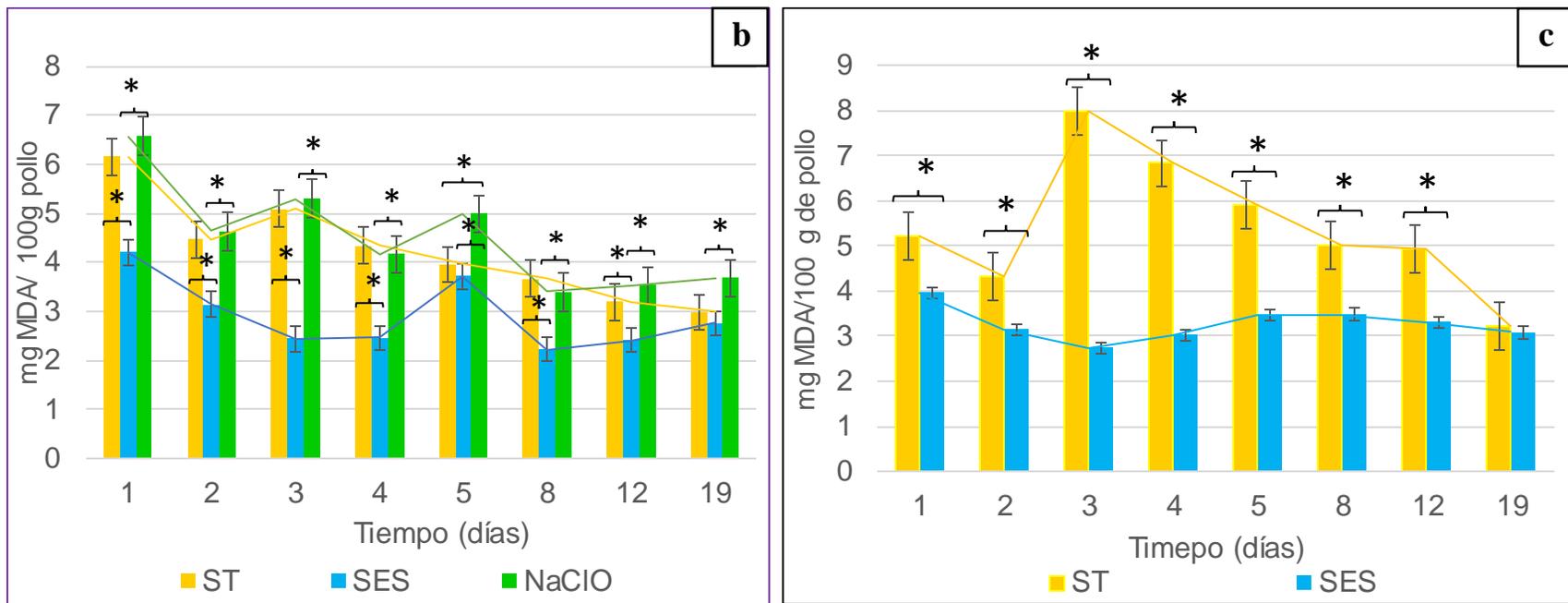


Figura 22. Evaluación del efecto de los desinfectantes sobre la oxidación lipídica en la carne de pollo del experimento CD (-/Contaminación/Desinfección) (b) y experimento D (-/Desinfección) (c).

* $p < 0.05$

Para las gráficas 22b y 22c se observa que las muestras tratadas con SES presentan valores de MDA menores con respecto al control (SSF) y al NaClO, lo cual también es un indicativo de que la SES retrasa la descomposición de la carne de pollo, particularmente la rancidez oxidativa.

La carne que fue tratada con la solución de hipoclorito de sodio, como se mencionó anteriormente, es capaz de reaccionar con los ácidos grasos lo cual se ve reflejado en estos resultados, presentando valores más elevados de MDA (producto de la oxidación lipídica).

Los resultados obtenidos de la figura 22c, indican que los microorganismos de descomposición promueven las reacciones de oxidación lipídica ya que *Escherichia coli* O157:H7 no posee enzimas que promuevan la degradación de lípidos.

Los ácidos grasos más susceptibles a reacciones de oxidación son los ácidos grasos poliinsaturados también conocidos como PUFA's (por sus siglas en inglés), la carne de pollo posee un alto contenido de ellos, por lo que es muy susceptible a sufrir rancidez oxidativa.

Estas reacciones de oxidación dependerán de factores como la alimentación de las aves (efecto de antioxidantes), presencia de antioxidantes endógenos (como la vitamina E, C y carotenoides), la presencia de metales pro-oxidantes (como el hierro), disponibilidad de oxígeno, temperaturas de almacenamiento (Gobantes *et. al.*, 2001, Gruen, 2008)

En general en las gráficas mostradas se aprecia una disminución del contenido de MDA al paso del tiempo, este comportamiento puede deberse a la presencia de enzimas como la superóxido dismutasa, la catalasa y la glutatión peroxidasa, que en conjunto contrarrestan el efecto de agentes oxidante y pro-oxidantes (Serpen *et. al.*, 2012). También es probable que el MDA este reaccionando con compuestos aminados y eso le impida reaccionar con el TBA, por lo que ya no se está cuantificando. (Navarro, 2004)

Reuniendo todos los resultados mostrados en este desarrollo experimental observamos que aunque la SES no presenta efectos bactericidas en el estudio con la carne de pollo, si nos ofrece ventajas en la conservación de la misma. Pues en los parámetros fisicoquímicos de la carne de pollo que fueron evaluados en este experimento observamos que la SES ayuda a conservar la carne de pollo durante un periodo de tiempo más prolongado en condiciones de refrigeración.

En este desarrollo experimental se observó que la carne de pollo que fue irradiada con luz UV no presenta estos resultados favorables en la conservación de la carne de pollo por lo cual no se recomienda irradiar la carne de pollo con luz UV como un paso previo a la desinfección con SES ya que esta acción puede inactivar los desinfectantes mencionados, provocando así un efecto nulo en la conservación de la carne de pollo almacenada en refrigeración.

El uso de la SES como conservador en la carne de pollo nos brinda las ventajas de lograr con un solo producto los beneficios que lograríamos con varios aditivos alimentarios, es decir, para lograr la estabilidad del pH se requiere de un regulador de acidez; para evitar la rancidez oxidativa se necesita de un antioxidante, para mantener la carne sin un cambio en la coloración se puede recurrir a un agente de retención de color, mientras que para disminuir la formación de BNVT y la carga bacteriana es necesaria la adición de una sustancia conservadora (la cual si es requerida para el control de la carga bacteriana).

Conclusiones

- La SES con pH neutro así como la solución de NaClO no provocaron una disminución de la carga bacteriana referente a *E. coli* O157:H7 en la carne de pollo.
- Dentro del ensayo *in vitro* la Solución Electrolizada de Superoxidación (SES) con pH neutro al igual de la solución de hipoclorito de sodio (NaClO) mostraron ser desinfectantes eficaces contra *Escherichia coli* O157:H7, logrando un porcentaje de reducción bacteriana >99.999%.
- La microscopia electrónica de transmisión mostró una deformación de la pared celular de *E. coli* O157:H7 mediante la cual se hace evidente el efecto de la SES sobre la pared celular bacteriana.

Experimento UV/Contaminación/Desinfección (UCD)

- La SES con pH neutro no provoca un cambio total de color en la carne de pollo en comparación al tratamiento de SSF.
- El tratamiento de luz UV en conjunto con el tratamiento con NaClO provoca un cambio total de color significativo en la carne de pollo en comparación al tratamiento de SSF y SES.
- El uso de los desinfectantes no influye de manera significativa sobre el pH y el porcentaje de ácido láctico en la carne de pollo.
- El uso de los desinfectantes no evita la formación de bases volátiles nitrogenadas totales en la carne de pollo.

Experimento Contaminación/Desinfección (CD)

- No hay un cambio total de color producido por el tratamiento de los desinfectantes en la carne de pollo.
- El uso de la SES evita un aumento pronunciado de pH al paso del tiempo en comparación de SSF y NaClO,
- El uso de NaClO promueve que la carne de pollo tenga un menor contenido de ácido láctico en comparación al tratamiento de SSF y SES.

- El tratamiento de SES mantiene constante el porcentaje de ácido láctico al paso del tiempo.
- En la carne de pollo tratada con SES hay una menor producción de bases volátiles nitrogenadas totales, en comparación con SSF y NaClO a partir del quinto día de almacenamiento.
- El tratamiento con SES evita la oxidación lipídica en comparación a la SSF y NaClO.

Experimento Desinfección (D)

- La carne de pollo tratada con SES produce un menor cambio total de color en comparación al tratamiento de SSF.
- El uso de la SES no influye en el pH de la carne de pollo al paso del tiempo en comparación al tratamiento de SSF.
- El uso de la SES mantiene durante más tiempo el porcentaje de ácido láctico constante en comparación al tratamiento de SSF.
- En la carne de pollo tratada con SES hay una menor producción de bases volátiles nitrogenadas totales.
- El tratamiento con SES evita la oxidación lipídica en comparación a la SSF.

Proyecciones experimentales

- Evaluar el efecto antimicrobiano de la Solución Electrolizada de Superoxidación a pH neutro utilizando un volumen mayor en la aspersion.
- Evaluar la SES como agente antimicrobiano variando los tiempos de desinfección.
- Evaluar otras propiedades fisicoquímicas de la carne como la capacidad de retención de agua (CRA) y la textura.

Referencias

- Balandro, F. (2007). Soluciones para irrigación en endodoncia: hipoclorito de sodio y gluconato de clorhexidina. *Revista científica odontológica*. 3(1), 11-14
- Bialka, K, Demirci A., Kanabel S.J., Pattersson P.H., Puri V.M. (2004). Efficacy of electrolyzed water for the microbial safety and quality of the eggs. *Poultry Science* 83, 2071-2078
- Buege, J. and Aust, S. (1978). Microsomal Lipid Peroxidation. *Methods in Enzymology* 52:302-310.
- Bügener, E. Kump, A. Casteel, M. Klein, G. 2014. Benefits of neutral electrolyzed oxidizing water as a drinking water additive for broiler chickens. *Poultry Science*. 93 (9): 2320-2326.
- Cabello, C. (2009). Efecto de una solución electrolizada de superoxidación con pH neutro sobre la infección del virus de influenza A en células MDCK. *Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias*, 280-287.
- Castrillon H.; Wilson E.; Fernandez S.; Jorge A.; Restrepo B.; Luís F. (2005). Determinación de carne PSE (pálida, suave y exudativa) en canales de cerdo. *Vitae* [online], 12(1), 23-28. Disponible en http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-40042005000100003. [Último día de acceso: 27/02/2017].
- CDC (Center for Disease Control and Prevention), (2016). Reports of Selected *E. coli* Outbreak Investigations. [En línea] [última actualización 2016] Disponible en: <http://www.cdc.gov/ecoli/outbreaks.html> [último día de acceso 03/06/2016].
- Cori, M., Michelangeli, C.; De Basilio, V.; Figueroa, R. y Rivas, N., 2014. Solubilidad proteica, contenido de mioglobina, color y pH de la carne de pollo, gallina y codorniz. *Archivos de Zootecnia* 63(241): 133-143
- De Mey E., Drabik-Markiewicz G., De Maere H., Peeters M.C., Derdelinck G., Paelinck H., Kowalska T. (2012). Dabsyl derivatisation as an alternative for dansylation in the detection of biogenic amines in fermented meat products

by reversed phase high performance liquid chromatography. *Food Chemistry*, 130(4):1017-1023.

- Díaz, A., y Membrillo, J. 2006. Consecuencias fisiológicas de la oxidación de proteínas por carbonilación en diversos sistemas biológicos. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 9(1):34-44.
- Duran H., (2010). Soluciones de superoxidación y su evolución tecnológica. *Revista Dolor*, Foro Nacional de Investigación y Clínica Médica. 3, 4-8.
- Fabrizio, K. (2002), Comparison of Electrolyzed Oxidizing Water with various antimicrobial interventions to reduce *Salmonella* species on Poultry. *Poultry Science* 81, 1598-1605
- FAO 1994. Aminas biogénicas. Nuevos indicadores químicos utilizados como criterios de calidad en harina de pescado. [en línea] [última actualización 1994]. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/field/003/AB482S/AB482S22.htm> [último día de acceso 12/03/2017]
- FAO Prevención de *E. coli* en los alimentos [En línea] [última actualización 2011] Disponible en: http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/agns/pdf/Preventing_E.coli_es.pdf [último día de acceso 09/03/2016].
- FAO, Departamento de Agricultura y Protección del consumidor. Producción y sanidad animal. 2007. [En línea] [última actualización 2007] Disponible en: http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/meat/backgr_composition.html [último día de acceso 07/03/2017]
- FAO/ONU-AGA (Food and Agriculture Organization of the United Nations/ Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). (2016) [en línea] [última actualización 2016] Disponible en: <http://www.fao.org/ag/ags/gestion-poscosecha/carne-y-productos-carnicos/antecedentes-y-consumo-de-carne/composicion-de-la-carne/es/> [último día de acceso 03/06/2016].
- FAO-WHO [Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization]. (2011). Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* in raw

beef and beef products approaches for the provision of scientific advice meeting report. Microbiological Risk Assessment Series No. 18. Geneva. 126 pp. [En línea] [Actualizado en 2011] Disponible en : ftp://ftp.fao.org/ag/agn/jemra/MRA_18.pdf [último día de acceso el 31/03/2016]

- Faustman, C, Chan, W, Schaefer, D. and Havens, A. 1998. Beef Color Update: The Role for Vitamin E. *Journal Animal Science* 76, 1019-1026
- FDA (Food and Drug Administration) (2014). Bad Bug Book: Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook *Escherichia coli* O157:H7. [En línea] (Actualizado en 2014). Disponible en: <http://www.fda.gov/Food/FoodborneIllnessContaminants/CausesOfIllnessBadBugBook/ucm071284.htm> [último día de acceso 30/05/2016]
- Feliciano, L., Jaesung, L., Melvin, P. (2012) Transmission Electron Microscopic Analysis Showing Structural Changes to Bacterial Cells Treated with Electrolyzed Water and an Acidic Sanitizer. *Journal and Food Science*. 77(4):182-187
- Fletcher D. 2001. Color de la carne de aves de granja. En: D. Fletcher ed. Ciencia de la carne de ave. España. Acriba 181-199
- Forsythe S., Hayes, P. 2002. Higiene de los alimentos. Ed: Acribia S.A. Zaragoza España. 373-380.
- Gobantes, I, Gómez, R, and Choubert, G. (2001). Envasado de alimentos. Aspectos técnicos del envasado al vacío y bajo atmósfera protectora. Alimentación, equipos y tecnología, 1. 75-80.
- González, F. (2005). Desarrollo y aplicación de sensores para evaluar la contaminación microbiológica de superficies domésticas españolas y de la efectividad de desinfectantes in situ de productos limpiadores comerciales.
- Gruen, I. (2008) Antioxidants. in Ingredients in Meat Products: Properties, Functionality and Applications. Ed. R. Tarte. 291-300,
- Gutiérrez, A., Palou, E., López A. 2012. Equipos para tratamientos de alimentos con radiación UVC. *Temas selectos de ingeniería de alimentos* 6(2):149-159.

- Hernández, C., Aguilera, M., Castro G., (2011). Situación de las enfermedades gastrointestinales en México. *Revista de Enfermedades Infecciosas y Microbiología*, 31 (4):137-151
- Hertog-Meischke, M., Smulders, F., Houben, J., and Eikelenboom. (1997). The effect of dietary vitamin E supplementation on drip loss of bovine Longissimus lumborum, Osoas major and Semitendinosus muscles. *Meat Science.*, 45(2):153-160
- Houdt R., Michiels C. (2005). Role of bacterial cell surface structures in *Escherichia coli* biofilm formation. *Research in Microbiology*, 156:626-633.
- Hunt M.C., Acton J.C., Benedict R.C., Calkins C.R., Cornforth D.P., Jeremiah L.E., Olson D.G., Salm C.P., Savell J.W., Shivas S.D. (1991). Guidelines for meat color evaluation. *American Meat Science Association*. 12, 189-203
- Kashmiri, Z., Mankar, S. (2014). Free radicals and oxidative stress in bacteria. *Internarional Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 3(9) 34-40
- Kim, C. Hung Y. Brackett R. (2000). Roles of oxidation-reduction potential in electrolized oxidizing and chemically modified water for the inactivation of food-related pathogens. *Intenational Journal of Food Microbiology*. 63:19-24.
- Lawrie, R. 2001. Ciencia de la Carne. Ed. Acribia. Zaragoza. España. 355
- Lyon, S., Fletcher, D., Berrang, M. (2007). Germicidal Ultraviolet Light to Lower Numbers of *Listeria monocytogenes* on Broiler Breast Fillets. *Poultry Science* 86:964–967
- Mancini R.A., Hunt M.C. (2005). Current research in meat color. *Meat Science*, 71:100-121.
- Marriott, N., Gravani R. (2006). Principes of food sanitation. Quinta edición. New York: Springer International Publishing. pp. 25-30
- Martinez, M., Cortés, A., Avila, E. (2004) Evaluación de tres niveles de pigmento de flor de cempasúchil (*Tagetes erecta*) sobre la pigmentación de la piel en pollos de engorda. *Técnica Pecuaria en México*. 42(1):105-111
- Miller, R. 1994. En: R. Miller ed. Quality characteristics. Muscle Foods meat poultry and seafood technology. New York Chapman & Hall. 11

- Navarro, G., Bringas, L., Pacheco, R., (2004). Nueva herramienta para el estudio de la oxidación de los ácidos grasos, una de las causas fundamentales de la pérdida de calidad de los alimentos para la acuicultura. *Avances en Nutrición Acuícola*. 7, 480-503.
- OCDE-FAO Perspectivas Agrícolas 2013-2022 (2013) [en línea] [última actualización 2013]. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/018/i3307s/i3307s.pdf> [último día de acceso 31/03/2016]
- OMS (Organización Mundial de la Salud). *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) (2011). [en línea] [última actualización 2011]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/es/> [último día de acceso 29/10/2016]
- PROFECO (Procuraduría Federal del Consumidor) Revista del consumidor. Brújula de compra. Precios de proteína animal: cerdo, pollo y res Por Sharai Isabel Abaroa Silva. (2013) [en línea] [última actualización 2013] Disponible en: http://www.profeco.gob.mx/encuesta/brujula/bruj_2013/bol263_Precios_prot_eina_animal.asp [último día de acceso 09/03/2016]
- Rahimi E., Momtaz H., Ameri M., Ghasemian-Safaei H., Ali-kasemi M. (2010). Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* species isolated from chicken carcasses during processing in Iran. *Poultry Science* 89:1015-1020
- Restrepo, A., and Montoya, G. 2010. Implementación y Diseño de Procedimiento para Determinación de vida útil de quesos frescos, chorizos frescos y aguas en Bolsa. Universidad Tecnológica de Pereira, Facultad de Tecnologías- Escuela de Química, Tecnología Química. 11-13
- Rojas, R., Guevara, S. 2000. Estabilidad del hipoclorito de sodio *in situ*. [en línea] [última actualización 2000]. Disponible en: <http://www.bvsde.paho.org/bvsatp/e/tecnologia/documentos/agua/iEstabilidad.pdf> [Último día de acceso 12/03/2017].

- Ryu J., Beuchat L. (2005). Biofilm formation by *Escherichia coli* O157:H7 on stainless steel: effect of exopolysaccharide and curli production on its resistance to chlorine. *Applied and Environmental Microbiology* 7:247-254.
- Ryu J., Kim H., Beuchat L. (2004). Attachment and biofilm formation by *Escherichia coli* O157:H7 on stainless steel as influenced by exopolysaccharide production, nutrient availability, and temperature. *Journal of Food Protection* 67:2123-2131.
- SAGARPA Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Manual de Análisis de Calidad en Muestras de Carne (2011), pp. 72-78 [en línea] [última actualización 2011]. Disponible en: <http://www.sagarpa.gob.mx/ganaderia/Documents/MANUALES%20INIFAP/3.%20Manual%20de%20An%C3%A1lisis%20de%20Calidad%20en%20Muestras%20de%20Carne.pdf> [último día de acceso 13/01/2017]
- SAGARPA Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Evaluación de la frescura de la carne (2013), pp. 33, 60-75 [en línea] [última actualización 2013]. Disponible en: <http://siniitt.snitt.org.mx/proyecto/indicadores-de-calidad-en-la-cadena-de-produccion/> [último día de acceso 31/03/2016]
- SAGARPA. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación Subsecretaría de Fomento a los Proyecciones para el sector agropecuario de México. Capítulo 6. Perspectivas del subsector Pecuario [en línea] [última actualización 2009]. Disponible en: <http://www.sagarpa.gob.mx/agronegocios/Documents/Escenariobase09.pdf> [último día de acceso 9/03/2016]
- SAGARPA. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación Subsecretaría de Fomento a los Proyecciones para el sector agropecuario de México. (2013). Estimación de la vida de anaquel de la carne. [en línea] [última actualización 2013] Disponible en: <http://www.sagarpa.gob.mx/ganaderia/Documents/MANUALES%20INIFAP/21.%20Estimaci%C3%B3n%20de%20la%20Vida%20de%20Anaquel%20de%20la%20Carne.pdf> [último día de acceso 31/01/2017].

- Signorini M., Guerrero-Legarreta I. (2009). Producción de aminas biogénicas en carne de bovino conservada con ácido láctico de origen químico y bacteriano. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 8(1):41-49
- Signorini M., Ponce-Alquicira E., Guerrero-Legarreta I., (2007). Proteolytic and Lipolytic Changes in Beef Inoculated with Spoilage Microorganisms and Bioprotective Lactic Acid Bacteria. *Journal Food Properties*, 6(1): 147-163.
- Soladoye, O. Juárez, M. Aalhus, J., Shand, M., Estévez, M. (2015). Protein oxidation in processed meat: mechanisms and potential implications on human health. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14, 106-122
- Tabernero de Paz, M., Bodas, J., Bartolomé, D., Posado, R., Garcia, J., Olmedo, S., (2013) Agua electrolizada como higienizante en producción animal: efectos en sanidad y productividad. Revisión bibliográfica. *Archivos de Zootecnia*. 62:13-23.
- The center of security and public health IOWA State University College of Veterinary Medicine, *E. coli* enterohemorrágica. [en línea] [última actualización 2009]. Disponible en : http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/ecoli_enterohemorrhagica.pdf [último día de acceso 09/03/2016]
- Tirado, J., Paredes, D., Velázquez, J. 2005. Crecimiento microbiano en productos cárnicos refrigerados. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, Sociedad Mexicana de Nutrición y Tecnología de Alimentos. 5(1):6676.
- Torres, W. (2002). Biología de las especies de oxígeno reactivas. *Mensaje Bioquímico*, 26, 19-54
- UNA (Unión Nacional de Avicultores) 2015. Situación de la avicultura mexicana. [en línea] (Actualizado en 2015). Disponible en: <http://www.una.org.mx/index.php/component/content/article?layout=edit&id=57> [último día de acceso 28/05/2015]
- UNAM Universidad Nacional Autónoma de México, Departamento de microbiología y Parasitología - Recursos en bacteriología. *Escherichia coli* diarrogénica. (2011). [en línea] (Actualizado en 2011). Disponible en:

<http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/bacteriologia/escherichia-coli.html> [último día de acceso 29 de octubre 2016]

- USDA United States Department of Agriculture/ Food Safety and Inspection Service (FSIS) Modelo HACCP general para el sacrificio de aves (1999). [en línea] [última actualización 1999]. Disponible en: http://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/bf513c3f-0360-47cc-a48a-6dd09d961824/HACCP-5_SP.pdf?MOD=AJPERES [Último día de acceso 31/03/2016]
- Warriss, P. 2001. Influencia del manejo antemortem en la calidad de la carne de aves de granja. En: P. Warriss, L. Wilkins y T. Knowels eds. Ciencia de la carne de ave. España. Acriba 245-259
- Wilks S., Michels H., Keevil C. (2005). The survival of *Escherichia coli* O157 on a range of metal surfaces. *International Journal of Food Microbiology* 105:445-454.
- Wray, C. 2001. Infección por *Salmonella* ssp. En las aves de granja: el ambiente de producción. En: C. Wray, R. Davies y S. Evans eds. Ciencia de la carne de ave. España. Acriba 291-309
- Yang, Z., Hongwei X., Deling Z., Weichao Z. Wei T., He M., Kai L., Hui H., Tong W., Michelle S. 2014. Free chlorine loss during spraying of membraneless acidic electrolyzed water and its antimicrobial effect on airborne bacteria from poultry house. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 21(2):249-255

ANEXO A

1A Confirmación de *Escherichia coli* O157:H7. Se realizó mediante un análisis en Vitek 2, con un 99% de probabilidad de identidad. Para ello se transfirió una colonia aislada de un cultivo puro a un tubo de ensayo con 3 ml de solución salina, posteriormente se estandarizó la turbidez del inóculo con una curva estándar Mc Farland de 0.5; el inóculo se introdujo en la tarjeta de identificación (GN – Bacilos Gram negativo fermentadores y no fermentadores).

2A Crecimiento bacteriano. Se llevó a cabo mediante un enriquecimiento de *E. coli* en medio LB (Luria Bertani) y se incubó a 37 °C/24h con agitación de 150 rpm.

3A Titulación de la bacteria. Se colocó 1 mL de la suspensión bacteriana al tubo 1, para después hacer 6 diluciones decimales en tubos de ensayo con 9 mL de SSF, se sembraron (100 μ L) las diluciones 1, 3, 5 y 6 en agar TSA basándonos en NOM-092-SSA1-1994. En la dilución 10^{-6} se contaron 234 UFC, por lo que con este dato se realizó el siguiente cálculo:

$$\left(\frac{234UFC}{100\mu L}\right)\left(\frac{10^6 mL}{1 mL}\right)\left(\frac{1000\mu L}{1 mL}\right) = \frac{2.3 \times 10^9 UFC}{mL} \dots \dots \dots \text{ecuación 1}$$

Usando como referencia el estudio de Bialka y sus colaboradores en 2004, donde se utilizó un título bacteriano de 10^6 UFC/mL para la contaminación, fue necesario normalizar el título encontrado mediante una dilución cómo se muestra en la ecuación 2.

$$1000mL \left(\frac{10^6 UFC E. coli}{mL}\right) \left(\frac{1 mL de inóculo}{10^9 UFC E. coli}\right) = 1 mL inóculo \dots \dots \dots \text{ecuación 2}$$

4A Análisis de las soluciones desinfectantes. Se determinó el pH, ORP (potencia de óxido-reducción) y concentración de cloro. Para la medición de pH y ORP se utilizó un electrodo portátil impermeable (Hanna Instruments 98121 Combo pH & ORP) que fue introducido en un volumen de SES en constante agitación. Posteriormente se usó un fotómetro portátil (Hanna Instruments 96771) para medir la concentración de cloro, para ello fue necesario calibrar el equipo con los reactivos A (H116) y B (H112) ya que estos son los blancos de muestra cómo se ejemplifica en la figura A1; una vez calibrado el equipo se introdujo un volumen de la SES en otra fotocelda con los reactivos A y B, se homogenizo y se tomó la lectura.



Figura A1. Equipo utilizado para el análisis químico. Electrodo portátil impermeable (izquierda), fotómetro portátil (centro) y Reactivos blanco A y B

Para determinar la concentración de cloro de una manera más sensible se siguió la metodología descrita en NMX-AA-100-1987, por lo que se tomó un volumen de 50 mL de muestra, a este volumen se le añadió 1 g de KI y se agitó, al tomar una coloración amarilla (ver figura A2a), la muestra fue titulada con una solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.01 N hasta la disminución del tono amarillo (ver figura A2b), al llegar a esta tenue coloración se añadió 1 mL de una solución de almidón al 1%, para ver un contraste de color (ver figura A2c), y se siguió titulando con $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.01N hasta que la muestra quedó incolora (ver figura A2d).

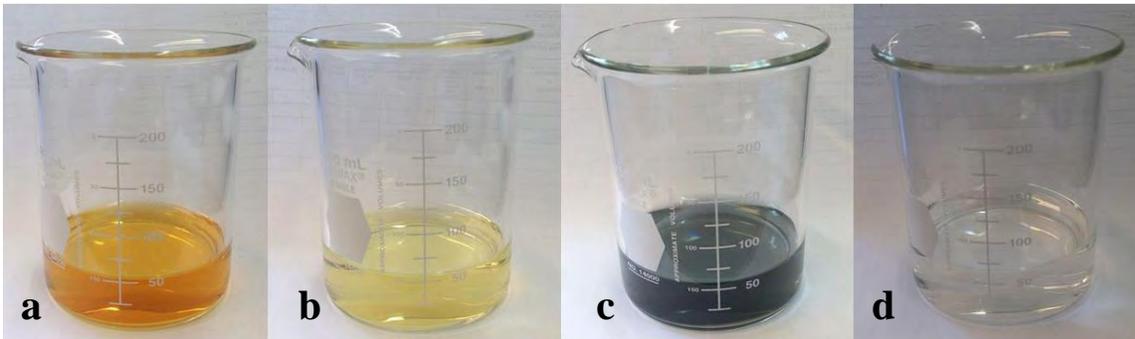


Figura A2. Determinación de cloro libre. **a** muestra con KI, **b** adición de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ **c** adición de solución de almidón, **d** fin de la normalización

Mediante la ecuación 3 se determinó la concentración de cloro [ppm].

$$\frac{\text{mg cloro}}{L} = \frac{(A - |B|) \times N \times 35450}{\text{vol. muestra}} \dots \dots \dots \text{ecuación 3}$$

A = volumen de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ gastado en la muestra

|B|= valor absoluto del volumen de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ gastado en el blanco

N = Normalidad del $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

5A Ensayo in vitro

Para este ensayo se siguió la metodología descrita en la NMX-BB-040-SCFI-1999. Se preparó un inóculo de *Escherichia coli* O157:H7, para ello se tomó una colonia y se colocó en 100 mL de caldo TSA, este inóculo se dejó incubando a 37 °C en agitación a 250 rpm / 20 h.

Primero se requirió saber el título de la bacteria para esto se colocó 1 mL de la suspensión bacteriana en un tubo con 9 mL de SSF, después se hicieron 7 diluciones decimales en tubos de ensayo con 9 mL de SSF y por último se sembraron 100 μL las diluciones 1, 3, 5, 6 y 7 en agar TSA basándonos en NOM-092-SSA1-1994. En la dilución 10^{-7} se contaron 81 UFC, por lo que con este dato se realizó el cálculo de la ecuación 4:

$$\left(\frac{81\text{UFC}}{100\mu\text{L}}\right)\left(\frac{10^7\text{mL}}{1\text{mL}}\right)\left(\frac{1000\mu\text{L}}{1\text{mL}}\right) = \frac{81 \times 10^8 \text{UFC}}{\text{mL}} \dots \dots \dots \text{ecuación 4}$$

Al comprobar que la cuenta viable inicial se encontró dentro del rango que establece la NMX.BB.040.SCFI.1999, se procedió a realizar la prueba de los desinfectantes. Para ello se prepararon por quintuplicado en tres tubos de ensaye estériles con 9.9 mL de SES, NaClO y SSF respectivamente, a cada tubo se le añadió 0.1 mL de inóculo, se agitó por 30 segundos y se hicieron cinco diluciones seriadas, de las diluciones 0, 1, 3 y 5 se sembraron 100 µL en agar TSA, para ser incubadas a 37 °C /24 h, y así determinar la cuenta viable.

Ya que fue determinada la cuenta viable después del tratamiento de desinfección que también es conocido como células sobrevivientes según la NMX-BB-040-SCFI-1999, se calculó el porcentaje de reducción utilizando la ecuación 5.

$$\% \text{ Reducción} = 100 - \frac{S \times 100}{C.V.} \dots \dots \dots \text{ecuación 5}$$

Donde:

S: son las células sobrevivientes UFC/mL

C.V. es la cuenta viable inicial (la NMX-BB-040-SCFI-1999 establece que la C.V. debe oscilar entre 75 y 125x10⁸ UFC/mL)

6A Tinción de Gram. Se preparó un inóculo de *Escherichia coli* O157:H7, tomando una colonia aislada y se suspendió en 100 mL de caldo TSA, posteriormente se incubó a 37 °C con agitación de 250 rpm/20 h. Se transfirieron 500 µL del inóculo en tres tubos Eppendorf estériles y se añadieron 500 µL de desinfectante a cada tubo, el tubo número uno con SES, el tubo número dos con NaClO y el tubo número tres con SSF; cada desinfectante se dejó actuar por 1 minuto posteriormente se centrifugó a 4000 rpm/3 minutos, se eliminó el sobrenadante y en cada tubo se introdujeron 500 µL de medio PBS para repetir el proceso de centrifugación a las mismas condiciones, nuevamente se retiró el sobrenadante y se colocaron 500 µL de medio PBS, se homogenizaron y se realizó una tinción de Gram de cada muestra.

7A Microscopia electrónica de transmisión. Se preparó un inóculo de *Escherichia coli* O157:H7 tomando una colonia aislada y se suspendió en 100 mL de caldo TSA, esta muestra se dejó incubando a 37 °C en agitación de 250 rpm/20 h. Se transfirieron 500 µL del inóculo a tubos Eppendorf estériles y se añadieron 500 µL de desinfectante a cada tubo (SES y SSF); cada desinfectante se dejó actuar por 1 minuto para posteriormente centrifugarlo a 4000 rpm/3 minutos, se eliminó el sobrenadante y se llevaron los pellets al Instituto de Fisiología Celular de la UNAM, donde se realizó una microscopia electrónica; las muestras se sometieron a un proceso de fijación, para ello al pellet formado se le añadió un buffer de fosfatos a pH 7.4, glutaraldehído al 3% y paraformaldehído al 1% y se dejó en reposo durante 1h. Posteriormente se le hicieron 3 lavados de 10 minutos c/u con un buffer de fosfatos. Después se realizó un proceso de post-fijación con tetraóxido de osmio al 2% durante 1h y se lavaron nuevamente por triplicado durante 10 minutos c/u con un el buffer de fosfatos. La muestra fue sometida a una deshidratación en alcoholes a concentraciones graduales desde 30-100% por 10 min en cada alcohol. La pre-inclusión se realizó con óxido de propileno, después la muestra se colocó en una resina epóxica (Epon) durante 24 h. para el proceso de inclusión se introdujo la muestra en Epon durante 2 h, y se sometió a un horneado de 64 °C por 48 h. Finalmente las muestras se cortaron en un ultramicrotomo dejándolas con un grosor de 90 nm.

Para poder ver en el microscopio la muestra es necesario añadirle acetato de uranilo y citrato de plomo para crear contraste. Las muestras fueron montadas en rejillas de níquel de 200 mesh, las muestras se observaron en un microscopio JEM 1200 EX - II y se tomó una fotografía tomada con una cámara digital CCD-Gatan.

8A Obtención de la carne de pollo. Siguiendo los procedimientos de muestreo, recolección y transporte según el Proyecto de NOM-109-SSA1-1994, se recolectaron 40 pechugas de pollo, de un lote de pollos de engorda de 7 semanas de edad, cada una se guardó en bolsas de polietileno estériles (ver Figura A3) y en contenedores con camas de hielo.



Figura A3. Obtención de la carne de pollo.

9A Tratamiento con luz UV. Se realizó irradiando la carne de pollo en una campana de flujo laminar (marca NUAIRE modelo NU-440-400) con luz UV durante 30 minutos totales, éste tiempo se dividió en dos periodos, dando vuelta a la carne al transcurso de 15 minutos; el tratamiento estuvo basando en la metodología de Fabrizio, 2002. Esto se realizó para eliminar la carga bacteriana que pudiera provenir de una mala evisceración o mal manejo de la carne durante el transporte.

10A Contaminación con *Escherichia coli* O157:H7. Se hizo una suspensión bacteriana de 1000 mL con una concentración de 10^6 UFC/mL, donde se sumergieron 5 pechugas según su agrupamiento durante 10 min. con movimiento constante, esto basado en la metodología de Bialka, *et. al.* 2004 y Bügener, *et. al.*, 2014.

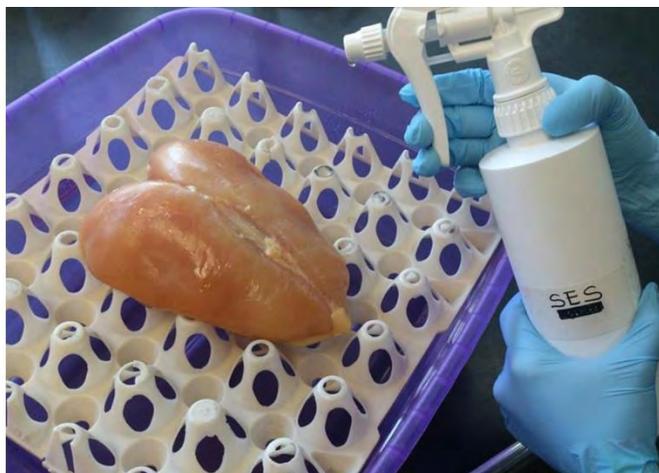


Figura A4. Proceso de desinfección en la carne de pollo

11A Desinfección. A cada grupo establecido en la planeación experimental (ver cuadro 2) se le aplicaron 26 aspersiones (como se muestra en la figura A4), equivalentes a 13 mL de la solución a evaluar (según corresponda: SES, NaClO o SSF) dejándose actuar por 1 minuto con base en la metodología de Fabrizio, 2002.

12A Recuperación bacteriana. Basándonos en la metodología descrita por Bialka y sus colaboradores 2004, se colocó cada pechuga después de desinfectar en bolsas plásticas estériles con 200 mL de SSF y se homogenizó por 1 minuto; posteriormente la pechuga se transfirió a otra bolsa estéril (vacía) y se llevó a refrigeración a 4°C (para su posterior análisis).

13A Conteo bacteriano. Se homogenizó el contenido de la bolsa de recuperación bacteriana y con pipeta automática se tomaron 1000 µL del mismo para transferirlos a un tubo de ensaye con 9 mL de SSF. Se realizaron cinco diluciones decimales seriadas y de las diluciones 1, 3 y 5 se tomaron 100 µL para sembrar en cajas Petri con medio TSA, las cajas se incubaron a 37°C/24h posteriormente se contabilizaron las UFC representativas basándonos en la NOM-092-SSA1-1994.

14A Evaluación de las características físicas de la carne de pollo

14.1A Cambio total de color. Fue llevado a cabo mediante la toma de color con base en la metodología descrita por Bialka *et. al.* 2004. Para ello se utilizó un colorímetro (Konica Minolta CM-600d No. 21011486.) que fue previamente

calibrado utilizando un patrón, para después tomar lecturas de color en la superficie de la pechuga de pollo en zonas aleatorias, estas lecturas se tomaron por sextuplicado para cada pieza de carne, proporcionando así los parámetros **L** (luminosidad), **a** (cambio de -a verde +a rojo) y **b** (cambio de color de -b azul, +b amarillo) mismos que fueron registrados.

15ª Evaluación de las características químicas de la carne de pollo

15.1A Determinación del pH. Esta evaluación se realizó basándonos en la NMX-F-317-S-1978; para este procedimiento se homogenizaron 10 g de muestra con 100 mL de agua destilada durante 1 minuto posteriormente se filtró en manta de cielo y el sobrenadante se recolectó en un matraz para medir el pH con un potenciómetro previamente calibrado.

15.2A Determinación del porcentaje de ácido láctico. Esta evaluación se realizó siguiendo la metodología de SAGARPA 2013; para esta metodología fue necesario homogenizar una muestra de 10 g de carne de pollo con 100 mL de agua destilada durante 1 minuto, esta mezcla fue filtrada y del sobrenadante se tomó una alícuota de 25 mL, a la cual se le añadieron 3 gotas de fenolftaleína al 1%, se homogenizó y se tituló con una solución de NaOH 0.0098 N, hasta obtener una coloración rosa pálido. También se realizó la titulación de agua destilada como blanco. Para determinar el porcentaje de ácido láctico se utilizó la ecuación 6.

$$\% \text{ ácido láctico} = \frac{(V_{NaOHm} - V_{NaOHb}) \times 0.09 \text{ meq ácido láctico}}{m \text{ carne}} \times 100 \dots \text{ecuación 6}$$

Donde:

V NaOH m: es el volumen en mL de NaOH 0.01 N gastado en la muestra

V NaOH b: es el volumen en mL de NaOH 0.01 N gastado en el blanco

M: gramos de muestra

15.3A Determinación de bases nitrogenadas volátiles totales (BNVT). El procedimiento de esta determinación estuvo basado en la NMX-F-362-S-SCFI-

2011; la metodología consistió en colocar una muestra de 25 g de carne (cortada en trozos de 0.5 cm aproximadamente) con 100 mL de agua destilada y 2 g de MgO en un matraz Erlenmeyer de 250 mL, se agitó a 200 rpm/30 min/20°C.

Posteriormente se filtró y el filtrado se centrifugó a 2000 rpm/15 min. (para precipitar el exceso de MgO), del sobrenadante se colocaron 10 mL en una caja Pétri (con los bordes cubiertos previamente de vaselina), este volumen fue mezclado con 2 mL de solución saturada de carbonato de sodio; por otra parte en la tapa de la caja Pétri se colocaron 13 gotas (distribuidas de manera uniforme) de una solución saturada de ácido bórico en glicerina (28 g de ácido bórico/ 100 g de glicerina), se colocó la tapa sobre la base cuidando que las gotas quedaran suspendidas. Se dejaron en reposo las cajas durante 3 horas a 40°C, transcurrido este tiempo las gotas fueron trasferidas con ayuda de 60 mL de agua destilada a pH de 5.1 a un matraz Erlenmeyer de 250 mL; se añadieron 0.1 mL de solución alcohólica de rojo de metilo al 0.5% y 0.1 mL de solución alcohólica de verde de bromocresol al 0.4% al contenido del matraz para titularlo con ácido clorhídrico 0.098N hasta obtener una coloración rosada. También fue necesario titular un blanco de reactivos. Para cuantificar el contenido de BNVT se utilizó la ecuación 7.

$$\% BVNT = \frac{0.00014 \times (V_m - V_b) \times 100}{M} \dots \dots \dots \text{ecuación 7}$$

Donde:

V_m: es el volumen en mL gastados de HCl 0.01 M en la titulación de la muestra

V_b: es el volumen en mL gastados de HCl 0.01 M en la titulación del blanco

M: gramos de muestra

15.4A Determinación de sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico. Se homogenizó una muestra de 5 g de carne con 20 mL de ácido tricloroacético (TCA)

al 5% durante 1 minuto, posteriormente se centrifugó a 2500 rpm/15 minutos, posteriormente el sobrenadante se filtró a través de papel Whatman No. 4. Se tomaron 2 mL de la muestra y se mezclaron con 2 mL de ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) a concentración de 80 mM, posteriormente se introdujeron en un baño de agua a 94 °C durante 30 minutos. Transcurrido este tiempo se tomó lectura de la absorbancia (ajustando previamente con un blanco de reactivos) a 530 nm en un espectrofotómetro PERKIN ELMER UV/VIS Lambda 2S con ayuda de celdas de cuarzo PERKIN ELMER UV/VIS Spectroscopy Cells No. B0631009.

16A Análisis estadístico

Todas las gráficas fueron elaboradas con los promedios de las diferentes determinaciones y cada una realizada por quintuplicado. Estos datos fueron sometidos a un análisis estadístico de Kolmogorov-Smirnov para ver si los datos obtenidos seguían una distribución normal, al encontrar esta distribución normal, se realizó un análisis de varianza (ANOVA con un nivel de significancia de 0.05) para ver si había diferencia significativa entre los tratamientos.

ANEXO B

LABORATORIO BIOTEST																	
Nº de cliente: 7277	Informe de examen	Editado 20-feb-2013 07:09 CST															
Equipo Nº:		Editado por: arayes															
Nombre del paciente:		Nº paciente:															
Examen: Cepano-1																	
Bionúmero: 0405610440422611																	
Organismo seleccionado: Escherichia coli																	
Comentarios:	Cepa ATCC 11229																
Información de identificación	Tarjeta: GN	Nº de lote: 241244240	Fecha caduc.: 21-ago-2013 12:00 CST														
	Finalizado: 12-feb-2013 14:14 CST	Estado: Final	Tiempo de análisis: 4,00 horas														
Organismo seleccionado	99% Probabilidad Escherichia coli		Nivel de confianza: Identificación excelente														
Organismo SRF	Bionúmero: 0405610440422611																
Organismos de análisis y pruebas a separar:																	
Mensajes análisis:																	
Perfil(es) típico(s) contraindicante(s)																	
Detalles bioquímicos																	
2	APPA	-	3	ADQ	-	4	PyrA	-	5	IARL	-	7	dCEL	-	9	BGAL	-
10	H2S	-	11	BNAG	-	12	AGLTp	-	13	dGLU	+	14	GGT	-	15	OFF	+
17	BGLU	+	18	dMAL	+	19	dMAN	+	20	dMNE	+	21	BXYL	-	22	BAIap	-
23	ProA	+	26	LIP	-	27	PLE	-	29	TyrA	-	31	JRE	-	32	dSOR	+
33	SAC	-	34	dTAG	-	35	dTRE	+	36	CIT	-	37	MNT	-	38	SKG	+
40	dLAtK	-	41	AGLU	-	42	SUCT	+	43	NAGA	-	44	AGAL	+	45	PHOS	-
48	GlyA	-	47	ODC	+	48	LDC	-	53	IHISa	-	55	CMT	+	57	BGUR	+
53	O129R	+	59	GGAA	-	61	IMLTa	-	62	ELLM	+	64	LATa	-			

Figura B1. Reporte de confirmación de la cepa de *Escherichia coli*

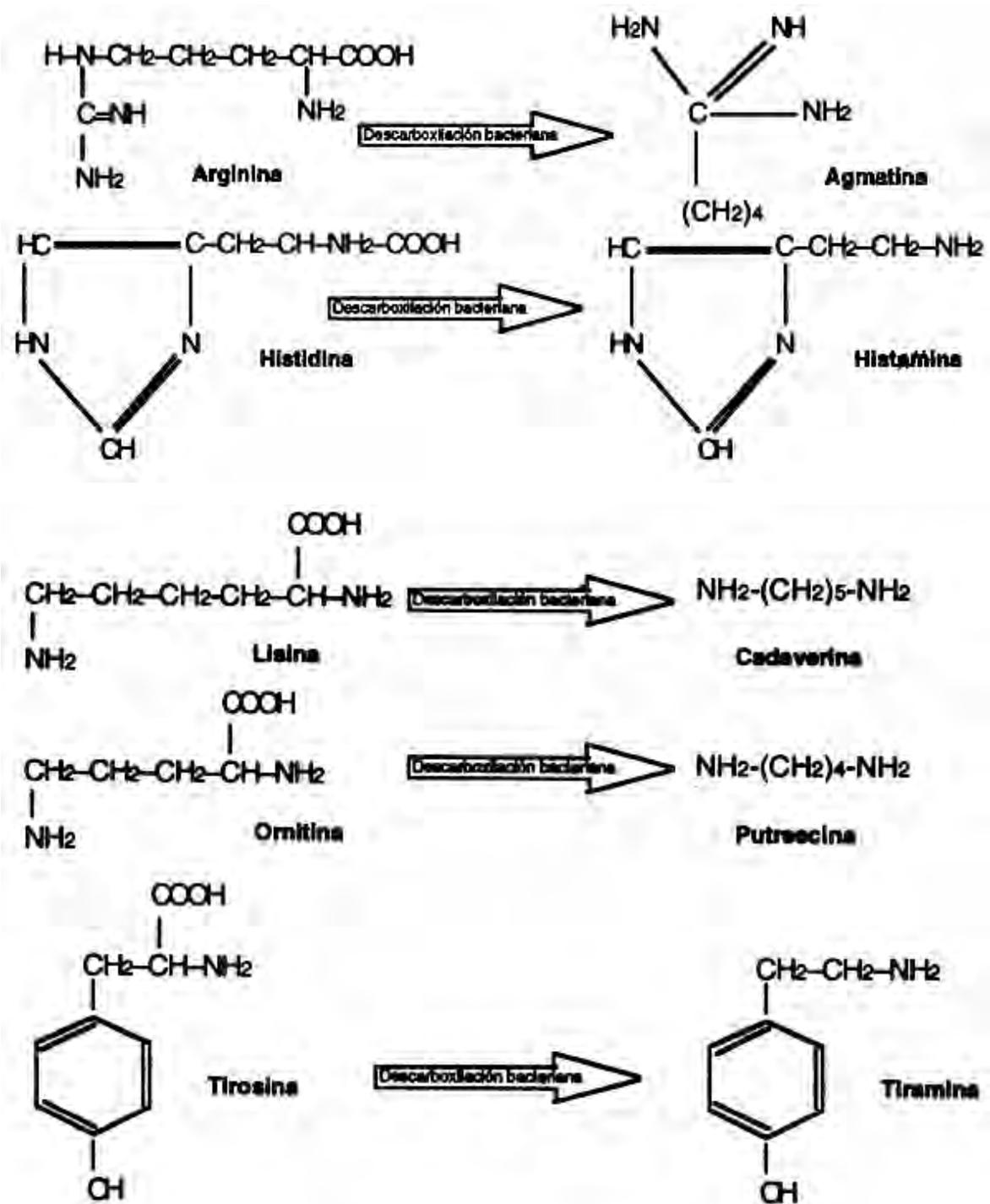


Figura B2. Esquema de formación de aminas biogénicas (Fuente: FAO, 1994)

ANEXO C

Conteo bacteriano

Cuadro 1C. Conteo bacteriano de las muestras de carne del grupo 1a del experimento UCD (UV/Contaminación/SES)

Día	LOG UFC/pechuga	Día	LOG UFC/pechuga
1	6.5816	8	7.699
	6.2579		8.057
	6.3388		7.204
	6.1818		8.246
	6.1712		7.699
Promedio	6.3063	Promedio	7.781
Desviación est.	0.1680	Desviación est.	0.399

Cuadro 2C. Conteo bacteriano de las muestras de carne del grupo 2a del experimento UCD (UV/Contaminación/NaClO)

Día	LOG UFC/pechuga	Día	LOG UFC/pechuga
1	6.278	8	7.888
	6.459		7.826
	6.100		7.625
	6.960		8.158
	6.204		7.480
Promedio	6.400	Promedio	7.795
Desviación est.	0.339	Desviación est.	0.260

Cuadro 3C. Conteo bacteriano de las muestras de carne del grupo 3a del experimento UCD (UV/Contaminación/ST)

Día	LOG UFC/pechuga	Día	LOG UFC/pechuga
1	6.0569	8	7.380
	6.1072		7.531
	6.2253		7.273
	6.7173		7.982
	6.2041		8.408
Promedio	6.2622	Promedio	7.715
Desviación est.	0.2636	Desviación est.	0.472

Cuadro 4C. Conteo bacteriano de las muestras de carne de pollo del grupo 1b del experimento CD (-/Contaminación/SES)

Día	LOG UFC/pechuga	Día	LOG UFC/pechuga
1	6.2782	8	7.903
	6.4590		7.748
	6.1004		7.380
	6.9595		7.964
	6.2041		7.477
Promedio	6.4002	Promedio	7.694
Desviación est.	0.3390	Desviación est.	0.257

Cuadro 5C. Conteo bacteriano de las muestras de carne de pollo del grupo 2b del experimento CD (-/Contaminación/NaClO)

Día	LOG UFC/pechuga	Día	LOG UFC/pechuga
1	6.009	8	8.301
	6.292		
	6.266		9.255
	6.623		9.146
	6.318		9.792
Promedio	6.302	Promedio	9.124
Desviación est.	0.218	Desviación est.	0.617

Cuadro 6C. Conteo bacteriano de las muestras de carne de pollo del grupo 3b del experimento CD (-/Contaminación/ST)

Día	LOG UFC/pechuga	Día	LOG UFC/pechuga
1	6.3891	8	9.513
	6.1271		7.956
	6.3424		9.301
	6.3891		7.965
	6.3655		9.716
Promedio	6.3226	Promedio	8.890
Desviación est.	0.1110	Desviación est.	0.861

Cuadro 7C. Conteo bacteriano de las muestras de carne de pollo del grupo 1c del experimento D (-/-/SES)

Día	LOG UFC/pechuga	Día	LOG UFC/pechuga
1	5.301	8	6.903
	5.146		6.778
	5.505		7.079
	5.000		7.342
	5.146		7.204
Promedio	5.220	Promedio	7.061
Desviación est.	0.192	Desviación est.	0.226

Cuadro 8C. Conteo bacteriano de las muestras de carne de pollo del grupo 2c del experimento D (-/-/ST)

Día	LOG UFC/pechuga	Día	LOG UFC/pechuga
1	5.301	8	7.505
	5.146		7.452
	5.505		7.301
	5.000		9.415
	5.146		8.371
Promedio	5.220	Promedio	8.009
Desviación est.	0.192	Desviación est.	0.891

Determinación de pH y porcentaje de ácido láctico

Cuadro 9C. pH y porcentaje de ácido láctico en las muestras de carne del grupo 1a del experimento UCD (UV/Contaminación/SES)

Día	pH	% ácido láctico	Día	pH	% ácido láctico
1	5.980	0.121	5	6.040	0.128
	6.040	0.127		5.820	0.125
	6.030	0.109		6.110	0.118
	6.010	0.156		6.450	0.180
	6.020	0.218		6.298	0.128
Promedio	6.016	0.146	Promedio	6.144	0.136
Desviación est.	0.023	0.044	Desviación est.	0.242	0.025
2	5.920	0.118	8	6.350	0.102
	6.160	0.112		6.170	0.111
	6.010	0.113		6.520	
	6.200	0.111		6.770	0.099
	6.050	0.114		6.610	0.101
Promedio	6.068	0.114	Promedio	6.484	0.104
Desviación est.	0.113	0.003	Desviación est.	0.232	0.005
3	6.160	0.093	12	6.590	0.111
	6.070	0.127		6.820	0.087
	6.070	0.120		6.540	0.111
	6.150	0.115		7.060	0.096
	6.080	0.122		6.620	0.099
Promedio	6.106	0.116	Promedio	6.726	0.101
Desviación est.	0.045	0.013	Desviación est.	0.215	0.010
4	6.100	0.113	19	6.640	0.101
	6.400	0.089		6.940	0.101
	6.180	0.117		6.760	0.093
	6.350	0.117		6.850	0.092
	6.100	0.106		6.730	0.090
Promedio	6.226	0.108	Promedio	6.784	0.095
Desviación est.	0.141	0.012	Desviación est.	0.115	0.005

Cuadro 10C. pH y porcentaje de ácido láctico en las muestras de carne del grupo 2a del experimento UCD (UV/Contaminación/NaClO)

Día	pH	% ácido láctico	Día	pH	% ácido láctico
1	5.96	0.126	5	6.130	0.138
	6.190	0.121		6.500	0.184
	5.500	0.130		6.500	0.184
	6.200	0.141		6.160	0.127
	5.963	0.125		6.170	0.119
Promedio	0.328	0.129	Promedio	6.292	0.151
Desviación est.	5.96	0.008	Desviación est.	0.190	0.031
2	6.080	0.128	8	6.190	0.126
	5.950	0.128		6.530	0.110
	5.960	0.162		6.410	0.107
	6.100	0.129		6.390	0.114
	6.000	0.127		6.500	0.058
Promedio	6.018	0.135	Promedio	6.404	0.103
Desviación est.	0.069	0.015	Desviación est.	0.133	0.026
3	6.050	0.147	12	6.630	0.134
	6.050	0.147		6.970	0.156
	5.930	0.147		6.460	0.077
	6.170	0.138		6.870	0.121
	6.130	0.127		6.900	0.108
Promedio	6.066	0.141	Promedio	6.766	0.119
Desviación est.	0.092	0.009	Desviación est.	0.214	0.029
4	5.860	0.273	19	6.710	0.111
	6.150	0.109		6.670	0.108
	6.340	0.147		6.940	0.224
	6.060	0.105		6.600	0.109
	6.140	0.106		7.300	0.096
Promedio	6.110	0.148	Promedio	6.844	0.130
Desviación est.	0.173	0.072	Desviación est.	0.285	0.053

Cuadro 11C. pH y porcentaje de ácido láctico en las muestras de carne del grupo 3a del experimento UCD (UV/Contaminación/ST)

Día	pH	% ácido láctico	Día	pH	% ácido láctico
1	6.060	0.115	5	6.100	0.117
	5.750	0.144		6.160	0.112
	6.370	0.116		6.130	0.105
	5.920	0.148		6.100	0.094
	6.160	0.107		6.190	0.096
Promedio	6.052	0.126	Promedio	6.136	0.104
Desviación est.	0.235	0.128	Desviación est.	0.039	0.010
2	5.800	0.112	8	6.160	
	6.190	0.120		6.380	0.114
	5.930	0.125		6.130	0.125
	5.930	0.118		5.700	0.124
	6.270	0.107		6.400	0.107
Promedio	6.024	0.117	Promedio	6.154	0.117
Desviación est.	0.197	0.007	Desviación est.	0.282	0.008
3	6.100	0.129	12	6.790	0.117
	6.100	0.118		6.780	0.092
	6.060	0.124		6.680	0.145
	6.000	0.118		6.700	0.131
	6.150	0.160		6.890	0.120
Promedio	6.082	0.130	Promedio	6.768	0.121
Desviación est.	0.056	0.017	Desviación est.	0.083	0.020
4	5.950	0.111	19	6.870	0.123
	6.260	0.102		7.230	0.119
	5.800	0.107		6.460	0.123
	5.800	0.121		7.060	0.113
	6.370	0.115		7.300	0.136
Promedio	6.036	0.111	Promedio	6.984	0.123
Desviación est.	0.265	0.007	Desviación est.	7.007	0.009

Cuadro 12C. pH y porcentaje de ácido láctico en las muestras de carne del grupo 1b del experimento CD (-/Contaminación/SES)

Día	pH	% ácido láctico	Día	pH	% ácido láctico
1	6.142	0.154	5	6.230	0.130
	5.720	0.206		6.150	0.121
	6.150	0.142		6.220	0.135
	6.109	0.134		6.190	0.128
	6.000	0.136		6.150	0.127
Promedio	5.995	0.154	Promedio	6.188	0.128
Desviación est.	0.194	0.030	Desviación est.	0.038	0.005
2	6.103	0.135	8	6.433	
	5.960	0.142		6.300	0.125
	6.040	0.130		6.660	0.112
	6.134	0.138		6.570	0.121
	6.310	0.138		6.200	0.122
Promedio	6.103	0.137	Promedio	6.433	0.120
Desviación est.	0.150	0.004	Desviación est.	0.189	0.006
3	6.220	0.153	12	6.520	
	6.360	0.155		6.570	0.136
	6.090	0.127		6.570	0.129
	6.178	0.144		6.530	0.129
	6.040	0.140		6.440	0.122
Promedio	6.178	0.144	Promedio	6.526	0.129
Desviación est.	0.124	0.011	Desviación est.	0.053	0.006
4	6.150		19		0.130
	6.180	0.145		6.730	0.160
	6.390	0.128		6.820	0.205
	6.230	0.135		6.750	0.159
	6.160	0.131		6.620	0.107
Promedio	6.222	0.135	Promedio	6.730	0.152
Desviación est.	0.099	0.007	Desviación est.	0.083	0.037

Cuadro 13C. pH y porcentaje de ácido láctico en las muestras de carne del grupo 2b del experimento CD (-/Contaminación/NaClO)

Día	pH	% ácido láctico	Día	pH	% ácido láctico
1	6.1	0.126	5	6.590	
	5.900	0.120		6.500	0.117
	6.250	0.135		6.650	0.111
	6.150	0.129		6.740	0.114
	6.100	0.124		6.670	
Promedio	0.147	0.127	Promedio	6.630	0.114
Desviación est.	6.1	0.006	Desviación est.	0.090	0.003
2	6.71	0.101	8	6.810	0.113
	6.640	0.127		7.000	
	5.900	0.140		7.000	0.111
	6.250	0.090		6.800	0.112
	6.000	0.087		6.910	0.065
Promedio	6.300	0.109	Promedio	6.904	0.100
Desviación est.	0.366	0.023	Desviación est.	0.098	0.024
3	6.600	0.106	12	6.840	0.100
	6.310	0.090		6.900	0.089
	6.680	0.100		7.200	0.094
	6.600	0.104		7.160	0.162
	6.670	0.101		7.420	0.097
Promedio	6.572	0.100	Promedio	7.104	0.108
Desviación est.	0.151	0.006	Desviación est.	0.236	0.030
4	6.550		19	7.280	0.110
	6.700	0.138		7.240	0.099
	6.660	0.111		7.100	0.102
	6.780	0.118		7.190	0.109
	6.660	0.104		7.350	0.095
Promedio	6.670	0.118	Promedio	7.232	0.103
Desviación est.	0.083	0.015	Desviación est.	0.094	0.006

Cuadro 14C. pH y porcentaje de ácido láctico en las muestras de carne del grupo 3b del experimento CD (-/Contaminación/SSF)

Día	pH	% ácido láctico	Día	pH	% ácido láctico
1	6.260	0.118	5	6.370	0.109
	6.620	0.121		6.100	
	5.500	0.161		6.350	0.126
	5.750			6.030	0.136
	6.350	0.244		6.480	0.171
Promedio	6.096	0.161	Promedio	6.266	0.136
Desviación est.	0.459	0.059	Desviación est.	0.192	0.026
2	6.400	0.108	8	6.780	0.129
	5.500	0.110		7.220	0.229
	6.190	0.122		5.500	0.161
	6.220	0.103		6.600	
	6.410	0.107		7.200	0.125
Promedio	6.144	0.110	Promedio	6.660	0.161
Desviación est.	0.374	0.007	Desviación est.	0.702	0.048
3	6.290	0.127	12	7.460	0.094
	6.290	0.105		7.290	0.107
	6.280	0.107		6.900	0.103
	6.230	0.184		7.310	0.105
	6.350	0.121		7.530	0.125
Promedio	6.288	0.129	Promedio	7.298	0.107
Desviación est.	0.043	0.032	Desviación est.	7.266	0.011
4	6.360	0.093	19	7.460	0.188
	6.360	0.120		7.290	0.087
	6.170	0.121		6.900	0.136
	6.310	0.108		7.310	0.095
	6.370	0.120		7.530	0.175
Promedio	6.314	0.112	Promedio	7.298	0.136
Desviación est.	0.084	0.012	Desviación est.	7.266	0.046

Cuadro 15C. pH y porcentaje de ácido láctico en las muestras de carne del grupo 1c del experimento D (-/-/SES)

Día	pH	% ácido láctico	Día	pH	% ácido láctico
1	5.940	0.138	5	5.830	0.129
	5.700	0.172		6.030	0.143
	5.900	0.147		5.710	0.350
	5.820	0.126		5.900	0.448
	5.740	0.159		5.820	0.134
Promedio	5.820	0.148	Promedio	5.858	0.241
Desviación est.	0.102	0.018	Desviación est.	0.118	0.148
2	5.810	0.126	8		
	5.910	0.147		6.177	0.252
	5.750	0.131		6.530	0.121
	6.050	0.204		5.800	0.135
	6.030	0.129		6.200	0.499
Promedio	5.910	0.147	Promedio	6.177	0.252
Desviación est.	0.132	0.033	Desviación est.	0.298	0.175
3	5.870	0.250	12	6.520	0.104
	5.730	0.135		6.009	0.114
	5.620	0.129		6.370	0.451
		0.161			
	5.900	0.132		6.400	0.291
Promedio	5.780	0.161	Promedio	6.325	0.240
Desviación est.	0.130	0.051	Desviación est.	0.220	0.104
4	5.780	0.145	19	6.800	0.107
		0.179		6.540	0.116
	5.620	0.316		6.780	0.192
	6.100	0.134		6.980	0.354
	5.970	0.121			
Promedio	5.868	0.179	Promedio	6.775	0.192
Desviación est.	0.211	0.080	Desviación est.	0.181	0.114

Cuadro 16C. pH y porcentaje de ácido láctico en las muestras de carne del grupo 2c del experimento D (-/ST)

Día	pH	% ácido láctico	Día	pH	% ácido láctico
1	5.83	0.126	5		
	5.750	0.124		5.923	
	5.800	0.137		5.830	0.274
	6.010	0.149		6.120	0.138
	5.740	0.128		5.820	0.118
Promedio	5.826	0.133	Promedio	5.923	0.177
Desviación est.	0.109	0.010	Desviación est.	0.139	0.085
2	5.920		8	6.130	0.181
	5.900	0.110		5.930	0.310
	5.890			6.270	
	6.050	0.119		6.070	0.334
	5.780	0.122		5.960	0.120
Promedio	5.908	0.117	Promedio	6.072	0.236
Desviación est.	0.096	0.006	Desviación est.	0.137	0.103
3	5.800	0.115	12	6.300	
	5.980			6.480	0.196
	5.770	0.116		6.090	0.101
	6.020	0.118		6.400	0.138
	5.900	0.110		6.530	0.116
Promedio	5.894	0.115	Promedio	6.360	0.138
Desviación est.	0.109	0.003	Desviación est.	0.174	0.042
4	5.940	0.169	19	6.823	
	5.820	0.180		7.040	0.200
	6.140	0.170		6.680	0.318
	6.110	0.213		6.910	0.061
	5.770	0.127		6.660	0.241
Promedio	5.956	0.172	Promedio	6.823	0.205
Desviación est.	0.167	0.031	Desviación est.	0.159	0.108

Determinación de color

Cuadro 17C. Determinación de los parámetros $L^* a^* b^*$ para el grupo 1a del experimento UCD (UV/Contaminación/SES)

Día	L	A	b	Día	L	a	b
1	48.307	0.107	6.453	5	56.342	2.188	10.363
	46.715	1.785	12.618		53.613	2.637	15.348
	50.462	1.043	9.995		55.782	3.468	12.585
	46.253	0.993	10.675		53.968	1.732	9.792
	44.907	1.702	8.617		53.365	2.357	8.747
Promedio	47.33	1.13	9.67	Promedio	54.61	2.48	11.37
Desv. est.	2.13	0.68	2.31	Desv. est.	1.35	0.64	2.63
2	49.252	1.840	12.555	8	58.990	0.767	9.342
	47.388	3.410	18.420		56.755	2.858	13.987
	46.413	2.648	15.450		55.937	1.415	9.467
	47.697	1.352	13.612		58.362	0.340	9.667
	45.682	2.577	12.417		54.670	3.203	7.655
Promedio	47.29	2.37	14.49	Promedio	56.94	1.72	10.02
Desv. est.	1.36	0.79	2.51	Desv. est.	1.76	1.27	2.36
3	50.872	1.328	12.877	12	56.452	0.778	8.982
	48.945	2.447	16.043		56.228	2.392	13.870
	47.885	1.593	13.662		58.057	2.698	11.605
	48.597	0.535	10.820		54.667	0.738	8.424
	46.377	2.040	11.050		53.713	1.395	8.963
Promedio	48.54	1.59	12.89	Promedio	55.82	1.60	10.37
Desv. est.	1.64	0.73	2.13	Desv. est.	1.68	0.91	2.32
4	51.567	0.458	12.848				
	48.858	0.752	8.322				
	46.900	0.527	7.705				
	44.052	3.523	11.165				
	47.355	-0.567	8.297				
Promedio	47.75	0.94	9.67				
Desv. est.	2.75	1.53	2.23				

Cuadro 18C. Determinación de los parámetros L^* a^* b^* para el grupo 2a del experimento UCD (UV/Contaminación/NaClO)

Día	L	A	b	Día	L	a	b
1	49.212	-0.035	7.247	5	59.685	1.105	11.768
	48.262	-0.042	6.690		57.380	0.752	8.088
	50.613	1.925	6.967		56.438	3.878	8.100
	55.848	0.580	7.242		57.100	0.620	10.053
	43.817	1.687	7.447		53.012	3.247	6.302
Promedio	49.55	0.82	7.12	Promedio	56.72	1.92	8.86
Desv. est.	4.34	0.94	0.29	Desv. est.	2.41	1.53	2.10
2	52.292	3.043	14.475	8	60.165	0.263	12.117
	50.185	1.482	13.107		59.900	-0.117	8.227
	48.768	4.678	13.452		49.945	12.725	3.505
	47.692	1.138	10.135		50.527	3.333	7.593
	44.755	2.417	10.318		53.448	2.317	8.535
Promedio	48.74	2.55	12.30	Promedio	54.80	3.70	8.00
Desv. est.	2.81	1.41	1.96	Desv. est.	4.96	5.24	3.07
3	48.933	1.760	13.050	12	57.322	0.087	10.458
	47.950	0.145	9.537		58.183	0.352	9.053
	43.388	5.010	9.077		48.627	7.280	6.242
	46.988	0.875	10.517		55.655	1.830	7.005
	44.178	2.335	10.403		54.302	1.517	10.788
Promedio	46.29	2.03	10.52	Promedio	54.82	2.21	8.71
Desv. est.	2.40	1.87	1.54	Desv. est.	3.77	2.93	2.03
4	61.895	6.218	20.125				
	47.723	2.885	16.458				
	48.483	1.550	12.515				
	47.702	0.210	11.340				
	45.708	2.287	10.192				
Promedio	50.30	2.63	14.13				
Desv. est.	6.56	2.24	4.10				

Cuadro 18C. Determinación de los parámetros L^* a^* b^* para el grupo 3a del experimento UCD (UV/Contaminación/ST)

Día	L	A	B	Día	L	a	B
1	47.327	2.452	10.418	5	55.320	2.300	11.805
	51.428	0.293	7.883		54.412	3.823	10.728
	50.783	0.272	10.263		53.742	0.330	10.722
	48.847	0.345	10.220		58.657	0.848	14.063
	46.338	0.233	7.767		52.633	1.052	8.175
Promedio	48.94	0.72	9.31	Promedio	54.95	1.67	11.10
Desv. est.	2.18	0.97	1.36	Desv. est.	2.29	1.40	2.13
2	56.688	5.038	15.262	8	54.740	4.113	10.262
	49.523	1.473	12.027		55.025	2.207	6.748
	48.692	0.442	11.957		56.563	1.910	9.368
	48.865	0.050	11.900		59.932	0.740	13.450
	43.920	0.883	9.485		53.747	2.235	8.362
Promedio	49.54	1.58	12.13	Promedio	56.00	2.24	9.64
Desv. est.	4.58	2.01	2.06	Desv. est.	2.42	1.21	2.50
3	46.313	3.337	12.297	12	55.432	2.998	11.568
	48.233	0.805	11.718		52.168	0.973	6.863
	48.105	1.255	12.790		53.065	1.933	9.665
	53.253	2.230	16.455		52.788	1.790	10.865
	43.663	1.707	11.710		52.493	1.242	7.332
Promedio	47.91	1.87	12.99	Promedio	53.19	1.79	9.26
Desv. est.	3.51	0.98	1.99	Desv. est.	1.30	0.78	2.09
4	47.483	4.105	13.458				
	45.328	0.290	8.093				
	48.998	1.420	12.130				
	49.475	0.330	12.210				
	45.603	0.538	7.533				
Promedio	47.38	1.34	10.69				
Desv. est.	1.90	1.61	2.68				

Cuadro 19C. Determinación de los parámetros L^* a^* b^* para el grupo 1b del experimento CD (-/Contaminación/SES)

Día	L	a	b	Día	L	a	b
1	49.515	0.238	9.887	5	55.288	1.362	12.395
	47.933	0.900	4.748		58.173	2.210	9.053
	46.228	0.838	9.735		53.543	2.045	9.987
	48.020	1.432	9.628		58.163	1.788	12.598
	49.813	1.132	10.170		56.887	2.850	10.775
Promedio	48.30	0.91	8.83	Promedio	56.41	2.05	10.96
Desv. est.	1.44	0.44	2.29	Desv. est.	1.99	0.55	1.53
2	47.658	1.652	10.228	8	57.623	1.422	11.547
	47.855	0.878	12.363		57.623	1.422	11.547
	46.725	1.303	13.473		55.342	3.553	10.323
	47.348	2.378	13.470		57.427	3.667	13.135
	53.283	0.113	14.122		59.200	1.515	11.032
Promedio	48.57	1.27	12.73	Promedio	57.44	2.32	11.52
Desv. est.	2.67	0.85	1.54	Desv. est.	1.38	1.18	1.03
3	50.943	- 0.568	13.587	12	57.040	1.045	6.602
	49.885	1.742	11.605		55.657	1.215	13.703
	46.325	0.805	11.052		54.255	0.223	8.663
	48.742	1.358	14.975		56.505	1.557	11.530
	46.088	1.827	11.638		57.247	1.737	10.775
Promedio	46.088	1.827	11.638	Promedio	56.14	1.16	10.25
Desv. est.				Desv. est.	1.22	0.59	2.72
4	52.218	1.362	12.278				
	55.208	1.102	6.000				
	47.815	0.035	8.610				
	48.495	2.608	14.137				
	49.302	0.745	11.215				
Promedio	50.61	1.17	10.45				
Desv. est.	3.07	0.95	3.19				

Cuadro 20C. Determinación de los parámetros L^* a^* b^* para el grupo 2b del experimento CD (-/Contaminación/NaClO)

Día	L	A	b	Día	L	a	b
1	47.637	0.797	9.077	5	58.037	0.813	9.645
	49.815	-0.173	8.242		54.573	1.630	12.528
	50.053	0.202	6.133		56.360	1.952	8.050
	48.260	-0.513	7.127		58.812	-0.597	8.192
	44.812	0.858	7.825		58.687	0.552	9.220
Promedio	48.12	0.23	7.68	Promedio	57.29	0.87	9.53
Desv. est.	2.11	0.60	1.12	Desv. est.	1.81	1.00	1.81
2	49.438	0.303	8.937	8	57.798	1.224	8.878
	47.067	0.670	10.598		58.777	0.533	9.473
	48.112	0.932	10.258		57.300	0.807	7.157
	45.822	-0.013	8.997		57.297	0.232	9.265
	46.845	-0.140	9.002		54.883	0.707	8.913
Promedio	47.46	0.35	9.56	Promedio	57.21	0.70	8.74
Desv. est.	1.37	0.45	0.80	Desv. est.	1.43	0.37	0.92
3	49.928	1.632	11.148	12	59.893	0.307	8.935
	48.165	0.857	12.875		56.352	-0.122	8.297
	49.137	1.582	9.850		54.553	0.625	8.085
	49.530	0.427	11.285		57.780	-0.160	9.658
	45.977	0.803	10.802		54.298	1.098	9.177
Promedio	48.55	1.06	11.19	Promedio	56.58	0.35	8.83
Desv. est.	1.58	0.53	1.10	Desv. est.	2.33	0.53	0.64
4	51.937	1.465	9.167				
	51.123	1.127	9.663				
	52.053	1.432	9.445				
	51.840	1.250	9.772				
	51.900	1.192	9.477				
Promedio	51.77	1.29	9.50				
Desv. est.	0.37	0.15	0.23				

Cuadro 21C. Determinación de los parámetros L^* a^* b^* para el grupo 3b del experimento CD (-/Contaminación/ST)

Día	L	A	b	Día	L	a	b
1	46.675	0.570	8.220	5	52.772	3.303	7.475
	48.577	0.448	7.773		53.737	1.283	8.228
	46.432	0.650	5.540		55.647	1.423	7.185
	50.467	-0.068	10.325		54.045	1.958	8.525
	48.532	0.600	7.415		55.713	2.663	6.728
Promedio	48.14	0.44	7.85	Promedio	54.38	2.13	7.63
Desv. est.	1.64	0.29	1.72	Desv. est.	1.27	0.85	0.74
2	45.435	2.673	10.193	8	57.685	2.370	10.668
	48.527	1.418	11.438		53.153	3.505	7.312
	47.002	2.435	11.358		56.208	1.048	7.787
	49.092	6.173	12.645		55.127	2.560	8.123
	45.770	1.163	11.193		57.055	3.865	8.283
Promedio	47.17	2.77	11.37	Promedio	55.85	2.67	8.43
Desv. est.	1.62	2.01	0.87	Desv. est.	1.78	1.10	1.30
3	46.292	1.360	10.803	12	56.173	0.517	9.557
	46.550	2.525	11.123		56.930	2.583	10.318
	49.960	1.705	12.628		56.930	2.583	10.318
	45.145	1.665	11.290		53.947	2.868	9.023
	44.620	2.137	10.970		57.363	0.518	8.342
Promedio	46.51	1.88	11.36	Promedio	56.28	1.45	9.05
Desv. est.	2.08	0.46	0.73	Desv. est.	1.37	1.17	0.93
4	49.783	1.080	10.442				
	52.115	1.438	10.952				
	49.802	1.603	9.895				
	48.173	1.060	10.238				
	49.635	0.597	11.010				
Promedio	49.90	1.16	10.51				
Desv. est.	1.41	0.39	0.47				

Cuadro 22C. Determinación de los parámetros L^* a^* b^* para el grupo 1c del experimento D (-/-/SES)

Día	L	a	B	Día	L	a	b
1	45.822	1.510	8.285	5	53.463	1.357	11.585
	51.637	0.322	9.495		57.605	0.648	12.660
	52.923	0.813	12.310		55.717	0.695	12.223
	47.832	-	3.932		56.667	-	5.677
	47.832	1.523	3.932		53.172	2.973	7.760
Promedio	49.03	0.36	8.38	Promedio	55.32	1.04	9.98
Desv. est.	3.09	1.14	3.03	Desv. est.	1.95	1.26	3.09
2	47.597	1.828	13.283	8	55.030	3.588	10.877
	49.890	1.353	13.325		58.693	1.573	9.600
	50.168	3.453	16.373		57.097	1.600	11.587
	51.132	-	8.467		60.097	-	6.200
	48.650	1.448	13.765		55.695	0.557	7.667
Promedio	49.49	1.46	13.04	Promedio	57.32	1.92	9.19
Desv. est.	1.38	1.81	2.86	Desv. est.	2.09	1.68	2.24
3	45.323	3.038	14.627	12	54.127	2.350	9.248
	50.907	0.445	13.155		50.895	2.482	11.952
	51.753	2.390	15.852		55.963	1.982	10.723
	50.565	-	10.097		58.587	-	5.165
	44.490	0.195	12.353		52.788	1.348	7.363333333
Promedio	48.61	1.61	13.22	Promedio	54.47	1.51	8.89
Desv. est.	3.42	1.40	2.20	Desv. est.	2.95	1.61	2.70
4	43.255	3.182	11.363				
	49.847	1.607	12.543				
	49.270	0.982	10.628				
	46.853	-	7.718				
	46.783	0.027	9.958				
Promedio	47.20	1.65	10.44				
Desv. est.	2.61	1.26	1.80				

Cuadro 23C. Determinación de los parámetros L^* a^* b^* para el grupo 2c del experimento D (-/-/ST)

Día	L	a	B	Día	L	a	b
1	55.350	-1.157	11.477	5	59.257	-0.685	13.027
	50.763	0.840	10.178		56.842	-1.418	7.815
	55.868	-1.037	8.990		54.792	2.208	14.067
	46.783	-0.627	6.742		54.602	0.453	7.962
	48.748	0.755	9.732		55.113	1.475	12.485
Promedio	51.50	-0.25	9.42	Promedio	56.12	0.41	11.07
Desv. est.	4.01	0.97	1.75	Desv. est.	1.96	1.49	2.96
2	49.978	-1.593	11.467	8	60.167	-1.113	10.703
	48.810	2.568	16.862		52.208	4.402	11.913
	51.570	0.473	13.322		58.342	-0.138	10.248
	47.740	0.890	12.305		54.840	0.970	7.890
	48.278	2.395	14.038		54.275	3.342	11.467
Promedio	49.28	0.95	13.60	Promedio	55.97	1.49	10.44
Desv. est.	1.53	1.69	2.07	Desv. est.	3.22	2.32	1.57
3	52.812	0.067	14.065	12	60.797	-1.197	9.798
	49.038	2.875	14.920		54.347	4.397	9.587
	53.095	-0.580	10.687		59.202	0.003	6.192
	48.770	0.390	11.097		56.398	0.765	7.218
	49.300	2.693	14.382		59.645	0.722	8.778
Promedio	50.60	1.09	13.03	Promedio	58.08	0.94	8.31
Desv. est.	2.16	1.59	1.98	Desv. est.	2.64	2.09	1.56
4	50.798	-0.018	14.710				
	49.195	0.750	11.877				
	51.438	-1.000	9.220				
	44.797	-0.183	5.627				
	47.880	0.678	12.348				
Promedio	48.82	0.05	10.76				
Desv. est.	2.64	0.72	3.47				

Determinación del contenido de Bases Nitrogenadas Volátiles Totales

Cuadro 24C. Contenido de Bases Nitrogenadas Volátiles Totales (BNVT) para el grupo 1a del experimento UCD (UV/Contaminación/SES)

Día	BNVT	Día	BNVT
1	0.730	5	1.119
	0.893		0.882
	0.775		0.888
	0.781		1.052
	0.778		1.172
Promedio	0.791	Promedio	1.023
Desviación est.	0.060	Desviación est.	0.133
2	0.666	8	0.948
	0.774		0.993
	0.838		1.167
	0.775		0.888
	0.889		1.163
Promedio	0.789	Promedio	1.032
Desviación est.	0.084	Desviación est.	0.127
3	0.950	12	1.292
	0.946		1.059
	0.947		1.058
	0.894		1.161
	0.892		0.888
Promedio	0.926	Promedio	1.092
Desviación est.	0.030	Desviación est.	0.149
4	0.949	19	1.493
	0.775		1.388
	0.949		1.281
	1.108		1.272
	0.998		1.172
Promedio	0.956	Promedio	1.321
Desviación est.	0.120	Desviación est.	0.123

Cuadro 25C. Contenido de Bases Nitrogenadas Volátiles Totales (BNVT) para el grupo 2a del experimento UCD (UV/Contaminación/NaClO)

Día	BNVT	Día	BNVT
1	0.729	5	
	0.732		0.955
	0.620		0.840
	0.675		0.887
	0.749		0.948
Promedio	0.701	Promedio	0.908
Desviación est.	0.053	Desviación est.	0.054
2	0.840	8	
	0.842		1.008
	0.841		0.999
	0.728		1.005
	0.838		1.111
Promedio	0.818	Promedio	1.031
Desviación est.	0.050	Desviación est.	0.053
3		12	
	0.839		1.060
	0.784		1.113
	0.780		1.388
	0.839		1.507
Promedio	0.811	Promedio	1.267
Desviación est.	0.033	Desviación est.	0.215
4		19	1.514
	1.005		1.446
	1.003		1.510
	0.668		1.491
	0.834		1.451
Promedio	0.878	Promedio	1.482
Desviación est.	0.161	Desviación est.	0.032

Cuadro 26C. Contenido de bases nitrogenadas volátiles totales (BNVT) para el grupo 3a del experimento UCD (UV/Contaminación/ST)

Día	BNVT	Día	BNVT
1	0.953	5	1.055
	0.882		0.942
	0.888		1.060
	0.943		1.164
	0.885		
Promedio	0.910	Promedio	1.055
Desviación est.	0.035	Desviación est.	0.091
2	1.116	8	1.061
	0.950		1.164
	0.945		1.100
	0.882		1.284
	0.724		1.113
Promedio	0.924	Promedio	1.144
Desviación est.	0.141	Desviación est.	0.086
3		12	1.224
	1.063		1.176
	0.895		1.163
	1.004		1.137
	1.004		1.280
Promedio	0.992	Promedio	1.196
Desviación est.	0.070	Desviación est.	0.057
4	1.062	19	1.623
	0.944		1.565
	1.007		1.337
	1.001		1.274
	0.950		2.193
Promedio	0.993	Promedio	1.598
Desviación est.	0.048	Desviación est.	0.364

Cuadro 27C. Contenido de bases nitrogenadas volátiles totales (BNVT) para el grupo 1b del experimento CD (-/Contaminación/SES)

Día	BNVT	Día	BNVT
1	0.842	5	0.894
	0.946		0.895
	0.952		0.892
	0.836		
	0.944		0.986
Promedio	0.904	Promedio	0.917
Desviación est.	0.060	Desviación est.	0.046
2	0.838	8	1.005
	0.727		0.893
	0.829		1.001
	0.808		0.948
	0.952		0.947
Promedio	0.831	Promedio	0.959
Desviación est.	0.081	Desviación est.	0.046
3		12	0.949
	0.835		1.003
	0.837		1.001
	0.889		1.005
	0.719		1.005
Promedio	0.820	Promedio	0.993
Desviación est.	0.072	Desviación est.	0.024
4	0.869	19	1.121
	0.839		1.123
	0.895		1.281
	0.896		1.392
	0.839		1.277
Promedio	0.868	Promedio	1.239
Desviación est.	0.028	Desviación est.	0.116

Cuadro 28C. Contenido de bases nitrogenadas volátiles totales (BNVT) para el grupo 2b del experimento CD (-/Contaminación/NaClO)

Día	BNVT	Día	BNVT
1	0.559	5	1.335
	0.554		1.171
	0.602		1.063
	0.613		1.158
	0.599		1.064
Promedio	0.586	Promedio	1.158
Desviación est.	0.027	Desviación est.	0.111
2	0.782	8	1.224
	0.809		1.446
	0.839		1.342
	0.780		1.398
	0.835		1.325
Promedio	0.809	Promedio	1.347
Desviación est.	0.028	Desviación est.	0.084
3	0.947	12	1.503
	0.829		1.613
	1.061		1.676
	0.947		1.609
	0.837		1.606
Promedio	0.924	Promedio	1.602
Desviación est.	0.096	Desviación est.	0.062
4	0.947	19	1.623
	0.829		1.565
	1.061		1.337
	0.947		1.274
	0.837		2.193
Promedio	0.924	Promedio	1.598
Desviación est.	0.096	Desviación est.	0.364

Cuadro 29C. Contenido de bases nitrogenadas volátiles totales (BNVT) para el grupo 3b del experimento CD (-/Contaminación/ST)

Día	BNVT	Día	BNVT
1	0.615	5	
	1.339		1.057
	0.664		1.001
	0.666		0.837
	0.539		1.115
Promedio	0.765	Promedio	1.002
Desviación est.	0.325	Desviación est.	0.120
2	0.557	8	1.718
	0.614		1.950
	0.391		1.672
	0.840		1.732
	1.113		1.778
Promedio	0.703	Promedio	1.770
Desviación est.	0.280	Desviación est.	0.108
3	1.060	12	2.056
	0.666		2.870
	1.171		1.621
	0.941		1.334
	0.840		1.336
Promedio	0.936	Promedio	1.843
Desviación est.	0.196	Desviación est.	0.645
4	1.173	19	2.018
	1.229		2.114
	1.342		2.090
	1.271		2.194
	1.340		2.178
Promedio	1.271	Promedio	2.119
Desviación est.	0.073	Desviación est.	0.071

Cuadro 30C. Contenido de bases nitrogenadas volátiles totales (BNVT) para el grupo 1c del experimento D (-/-SES)

Día	BNVT	Día	BNVT
1	0.559	5	0.778
	0.445		0.839
	0.499		0.611
	0.503		0.615
	0.502		0.556
Promedio	0.502	Promedio	0.680
Desviación est.	0.040	Desviación est.	0.122
2	0.614	8	0.390
	0.557		0.501
	0.556		0.942
	0.611		1.288
	0.670		1.170
Promedio	0.602	Promedio	0.858
Desviación est.	0.047	Desviación est.	0.399
3	0.725	12	0.943
	0.668		0.950
	0.669		1.004
	0.725		1.007
	0.615		1.117
Promedio	0.680	Promedio	1.004
Desviación est.	0.046	Desviación est.	0.070
4	0.670	19	1.174
	0.722		1.618
	0.668		1.343
	0.614		1.285
	0.672		1.221
Promedio	0.669	Promedio	1.328
Desviación est.	0.038	Desviación est.	0.174

Cuadro 31C. Contenido de bases nitrogenadas volátiles totales (BNVT) para el grupo 2c del experimento D (-/-/ST)

Día	BNVT	Día	BNVT
1	0.501	5	1.230
	0.501		1.231
	0.614		1.161
	0.503		1.119
	0.613		1.270
Promedio	0.546	Promedio	1.202
Desviación est.	0.061	Desviación est.	0.061
2	0.503	8	1.286
	0.277		1.391
	0.724		1.449
	0.783		1.217
	0.503		1.343
Promedio	0.558	Promedio	1.337
Desviación est.	0.202	Desviación est.	0.090
3	0.942	12	1.339
	0.895		1.617
	0.891		1.432
	0.896		1.502
	0.670		1.618
Promedio	0.859	Promedio	1.502
Desviación est.	0.108	Desviación est.	0.120
4	0.986	19	2.325
	0.951		2.237
	1.063		2.171
	1.064		2.226
	0.997		2.186
Promedio	1.012	Promedio	2.229
Desviación est.	0.050	Desviación est.	0.060

Determinación del contenido de sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico

Cuadro 32C. Contenido sustancias reactivas al ácido 2- tiobarbitúrico para el grupo 1b del experimento CD (-/Contaminación/SES)

Día	% MDA	Día	%MDA
1	4.847	5	4.722
	4.434		3.326
	3.302		1.137
	4.045		7.119
	4.402		2.291
Promedio	4.206	Promedio	3.719
Desviación est.	0.580	Desviación est.	2.315
2	2.872	8	2.198
	3.116		2.461
	2.951		2.065
	3.135		2.074
	3.642		2.307
Promedio	3.143	Promedio	2.221
Desviación est.	0.300	Desviación est.	0.167
3	3.265	12	2.303
	2.326		2.252
	2.521		2.489
	2.055		2.682
	2.035		2.324
Promedio	2.441	Promedio	2.410
Desviación est.	0.503	Desviación est.	0.176
4	2.261	19	2.294
	3.179		2.536
	2.199		3.114
	3.007		3.217
	1.630		2.618
Promedio	2.455	Promedio	2.756
Desviación est.	0.635	Desviación est.	0.394

Cuadro 33C. Contenido sustancias reactivas al ácido 2- tiobarbitúrico para el grupo 2b del experimento CD (-/Contaminación/NaClO)

Día	% MDA	Día	%MDA
1	8.232	5	7.995
	6.568		4.621
	4.705		2.612
	6.771		
	6.624		4.751
Promedio	6.580	Promedio	4.995
Desviación est.	1.254	Desviación est.	2.227
2	5.920	8	3.798
	5.514		4.356
	2.910		2.727
	4.089		3.174
	4.742		2.939
Promedio	4.635	Promedio	3.399
Desviación est.	1.195	Desviación est.	0.669
3	5.479	12	4.057
	6.237		3.182
	4.422		
			3.180
	5.061		3.724
Promedio	5.300	Promedio	3.536
Desviación est.	0.761	Desviación est.	0.431
4	5.074	19	4.296
	3.981		3.569
	3.759		2.745
	3.602		4.142
	4.432		3.639
Promedio	4.170	Promedio	3.678
Desviación est.	0.594	Desviación est.	0.609

Cuadro 34C. Contenido sustancias reactivas al ácido 2- tiobarbitúrico para el grupo 3b del experimento CD (-/Contaminación/SSF)

Día	% MDA	Día	%MDA
1	7.478	5	3.998
	4.836		3.941
	9.479		5.450
	3.419		3.013
	5.593		3.391
Promedio	6.161	Promedio	3.959
Desviación est.	2.363	Desviación est.	0.928
2	3.388	8	3.298
	5.159		
	2.916		3.241
			3.219
	6.399		4.900
Promedio	4.465	Promedio	3.252
Desviación est.	1.611	Desviación est.	0.825
3		12	2.701
	7.859		3.718
	3.294		3.486
	5.764		3.155
	3.459		2.913
Promedio	5.094	Promedio	3.265
Desviación est.	2.161	Desviación est.	0.413
4	7.033	19	2.555
	2.290		2.306
	3.989		3.283
	4.330		2.772
	4.082		4.017
Promedio	4.345	Promedio	2.729
Desviación est.	1.706	Desviación est.	0.679

Cuadro 35C. Contenido sustancias reactivas al ácido 2- tiobarbitúrico para el grupo 1c del experimento D (-/-SES)

Día	% MDA	Día	%MDA
1	3.656	5	3.009
	2.854		4.317
	4.669		2.864
	2.182		3.034
	6.458		4.164
Promedio	3.964	Promedio	3.477
Desviación est.	1.675	Desviación est.	0.702
2	3.603	8	4.000
	2.951		2.923
	2.750		3.197
	4.092		2.708
	2.330		4.583
Promedio	3.145	Promedio	3.482
Desviación est.	0.701	Desviación est.	0.786
3	2.356	12	3.392
	2.836		2.492
	4.106		4.742
	1.972		2.644
	2.421		3.289
Promedio	2.738	Promedio	3.312
Desviación est.	0.824	Desviación est.	0.890
4	4.585	19	2.006
	2.485		3.491
	2.733		3.690
	2.292		3.404
	3.024		2.816
Promedio	1.056	Promedio	3.081
Desviación est.	4.585	Desviación est.	0.684

Cuadro 36C. Contenido sustancias reactivas al ácido 2- tiobarbitúrico para el grupo 2c del experimento D (-/-SSF)

Día	% MDA	Día	%MDA
1	3.689	5	5.269
	4.956		
	4.651		5.519
	4.040		6.939
	8.716		5.909
Promedio	5.210	Promedio	0.901
Desviación est.	2.022	Desviación est.	5.269
2	4.775	8	5.769
	3.277		4.695
	5.461		5.282
	2.556		3.897
	5.505		5.425
Promedio	4.315	Promedio	5.014
Desviación est.	1.333	Desviación est.	0.735
3	7.788	12	4.763
			4.070
	9.644		7.056
	4.733		4.586
	9.817		4.190
Promedio	7.996	Promedio	4.933
Desviación est.	2.361	Desviación est.	1.220
4	5.706	19	3.692
	6.885		2.939
	9.702		2.930
	3.902		3.086
	7.991		3.445
Promedio	6.837	Promedio	3.218
Desviación est.	2.204	Desviación est.	0.337